BD BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials and BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials

Soybean-Casein Digest Broth



8085859(02)
2015-04

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкзии. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteys lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviseletétől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucţiuni, contactaţi reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

BD BACTEC Plus Aerobic/F and Plus Anaerobic/F media are used in a qualitative procedure for the aerobic and anaerobic culture and recovery of microorganisms (bacteria and yeast) from blood. The principal use of these media is with the **BD BACTEC** fluorescent series instruments.

SUMMARY AND EXPLANATION

The sample to be tested is inoculated into one or more vials which are inserted into the **BACTEC** fluorescent series instrument for incubation and periodic reading. Each vial contains a chemical sensor which can detect increases in CO_2 produced by the growth of microorganisms. The sensor is monitored by the instrument every ten minutes for an increase in its fluorescence, which is proportional to the amount of CO_2 present. A positive reading indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial. Detection is limited to microorganisms that will grow in a particular type of medium.

Resins have been described for the treatment of blood specimens both prior to and after their inoculation into culture media. Resins have been incorporated into **BACTEC** culture media to enhance recovery of organisms without a need for special processing.[1-3]

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

If microorganisms are present in the test sample inoculated into the **BACTEC** vial, CO_2 will be produced when the organisms metabolize the substrates present in the vial. Increases in the fluorescence of the vial sensor caused by the higher amount of CO_2 are monitored by the **BACTEC** fluorescent series instrument. Analysis of the rate and amount of CO_2 increase enables the **BACTEC** fluorescent series instrument to determine if the vial is positive, i.e., that the test sample contains viable organisms.

REAGENTS

The **BACTEC** culture vials contain the following reactive ingredients prior to processing:

List of Ingredients	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Processed Water	30 mL*	25 mL
	w/v	w/v
Soybean-Casein Digest Broth	3.0%	3.0%
Yeast Extract	0.25%	0.4%
Animal Tissue Digest	———	0.05%
Amino Acids	0.05%	0.25%
Sugar	———	0.25%
Sodium Citrate	———	0.02%
Sodium Polyanetholsulfonate (SPS)	0.05%	0.05%
Vitamins	0.025%	0.0006%
Antioxidants/Reductants	0.005%	0.16%
Nonionic Adsorbing Resin	16.0%	16.0%
Cationic Exchange Resin	1.0%	1.0%

All **BACTEC** media are dispensed with added CO_2. Anaerobic media are prereduced and dispensed with CO_2 and N_2.

*The medium volume has been increased in the **BACTEC** Plus Aerobic/F from 25 mL to 30 mL.

Warnings and Precautions:

The prepared culture vials are for *in vitro* diagnostic use.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"[4-7] and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Prior to use, each vial should be examined for evidence of contamination such as cloudiness, bulging or depressed septum, or leakage. DO NOT USE any vial showing evidence of contamination. A contaminated vial could contain positive pressure. If a contaminated vial is used for direct draw, gas or contaminated culture media could be refluxed into the patient's vein. Vial contamination may not be readily apparent. If a direct draw procedure is used, monitor the process closely to avoid refluxing materials into the patient.

Prior to use, the user should examine the vials for evidence of damage or deterioration. Vials displaying turbidity, contamination, or discoloration (darkening) should not be used. On rare occasions, the glass bottle neck may be cracked and the neck may break during removal of the flip-off cap or in handling. Also, on rare occasions a vial may not be sealed sufficiently. In both cases the contents of the vials may leak or spill, especially if the vial is inverted. If the vial has been inoculated, treat the leak or spill with caution, as pathogenic organisms/agents may be present. Before discarding, sterilize all inoculated vials by autoclaving.

Positive culture vials for subculturing or staining, etc.: before sampling it is necessary to release gas which often builds up due to microbial metabolism. Sampling should be performed in a biological safety cabinet if possible, and appropriate protective clothing, including gloves and masks, should be worn. See Procedure section for more information on subculturing.

To minimize the potential of leakage during inoculation of specimen into culture vials, use syringes with permanently attached needles or **Luer-Lok**™ tips.

Storage Instructions

The **BACTEC** vials are ready for use as received and require no reconstitution or dilution. Store in a cool, dry place (2° – 25 °C), **out of direct light.**

SPECIMEN COLLECTION

The specimen must be collected using sterile techniques to reduce the chance of contamination. The recommended specimen volume is 8 – 10 mL. It is recommended that the specimen be inoculated into the **BACTEC** vials at bedside. A 10cc or 20cc syringe with a **Luer-Lok** brand tip is used to draw the sample, or a **Vacutainer**™ Brand Needle Holder and a **Vacutainer**™ Brand Blood Collection Set, **Vacutainer**™ **Safety-Lok**™ Blood Collection Set or other tubing "butterfly" set may be used. If using a needle and tubing set (direct draw), carefully observe the direction of blood flow when starting sample collection. The vacuum in the vial will usually exceed 10 mL, so the user should monitor the volume collected by means of the 5 mL graduation marks on the vial label. Sample volumes as low as 3 mL can be used, however, recovery will not be as great as with larger volumes. **The inoculated BACTEC vial should be transported to the laboratory as quickly as possible.**

PROCEDURE

Remove the flip-off cap from the **BACTEC** vial top and inspect the vial for cracks, contamination, excessive cloudiness, and bulging or indented septums. **DO NOT USE** if any defect is noted. Before inoculating, swab the septum with alcohol (iodine is **not** recommended). Aseptically inject or draw directly 8 – 10 mL of specimen per vial. If sample volumes of 3 – 7 mL are used, recovery will not be as great as with larger volumes (see Limitations of the Procedure). **Inoculated aerobic and anaerobic vials should be placed in the BACTEC fluorescent series instrument as soon as possible** for incubation and monitoring. If placement of an inoculated vial into the instrument has been delayed and visible growth is apparent, it should not be tested in the **BACTEC** fluorescent series instrument, but rather it should be subcultured, Gram-stained and treated as a presumptively positive bottle.

Vials entered into the instrument will be automatically tested every ten minutes for the duration of the testing protocol period. Positive vials will be determined by the **BACTEC** fluorescent series instrument and identified as such (see the appropriate **BACTEC** Fluorescent Series Instrument User's Manual). The sensor inside the bottle will not appear visibly different in positive and negative vials, however the **BACTEC** fluorescent series instrument can determine a difference in fluorescence.

If at the end of the testing period a negative vial appears visually positive (i.e., chocolatized blood, bulging septum, lysed and/or very darkened blood in **BACTEC** Plus Aerobic medium), it should be subcultured and Gram-stained and treated as a presumptive positive.

Positive vials should be subcultured and Gram-stained. In a great majority of cases, organisms will be seen and a preliminary report can be made to the physician. Subcultures to solid media and a preliminary direct antimicrobial susceptibility test may be prepared from fluid in the **BACTEC** vials.

Subculturing: Prior to subculturing, put the vial in an upright position, and place an alcohol wipe over the septum. To release pressure in the vial, use an appropriate venting unit (BD catalog # 249560) or equivalent. The needle should be removed after the pressure is released and before sampling the vial for subculture. The insertion and withdrawal of the needle should be done in a straight-line motion, avoiding any twisting motions.

QUALITY CONTROL

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

DO NOT USE culture vials past their expiration date.

DO NOT USE culture vials that exhibit any cracks or defects; discard the vial in the appropriate manner.

Quality Control Certificates are provided with each carton of media. Quality Control Certificates list test organisms, including ATCC® cultures specified in the CLSI Standard M22, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. The range of time-to-detection in hours was ≤ 72 hours for each of the organisms listed on the Quality Control Certificate for this medium:

Aerobic Medium Organisms

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Anaerobic Medium Organisms

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**CLSI recommended strain*

For information on Quality Control for the **BACTEC** fluorescent series instrument, refer to the appropriate **BACTEC** Fluorescent Series Instrument User's Manual.

RESULTS

A positive sample is determined by the **BACTEC** fluorescent series instrument and indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Contamination

Care must be taken to prevent contamination of the sample during collection and inoculation into the **BACTEC** vial. A contaminated sample will give a positive reading, but will not indicate a relevant clinical sample. Such a determination must be made by the user based on such factors as type of organism recovered, occurrence of the same organism in multiple cultures, patient history, etc.

Recovery of SPS Sensitive Organisms From Blood Samples

Because blood can neutralize the toxicity of SPS toward organisms sensitive to SPS, the presence of maximum volumes of blood (8 – 10 mL) can help to optimize recovery of these organisms. To enhance the growth of SPS sensitive organisms when less than 8 mL of blood is inoculated, additional whole human blood may be added.

Some fastidious organisms, such as certain *Haemophilus* species, require growth factors, such as NAD, or factor V, which are provided by the blood specimen. If the blood specimen volume is 3.0 mL or less, an appropriate supplement may be required for recovery of these organisms. **BACTEC FOS**™ Fastidious Organism Supplement or whole human blood may be used as nutritional supplements.

Nonviable Organisms

A Gram-stained smear from a culture medium may contain small numbers of nonviable organisms derived from media constituents, staining reagents, immersion oil, glass slides, and specimens used for inoculation. In addition, the patient specimen may contain organisms that will not grow in the culture medium or in media used for subculture. Such specimens should be subcultured to special media as appropriate.

Antimicrobial Activity

Neutralization of the antimicrobial activity by resins varies depending upon dosage level and timing of specimen collection. The use of supplementary additives should be considered in appropriate situations; as an example, the addition of penicillinase when β-lactam therapy is being employed.

For information on antimicrobial agents neutralized by **BACTEC** resins, contact the BD Technical Services department at the toll free number listed below.

Recovery of *Streptococcus pneumoniae*

In aerobic media, *S. pneumoniae* will typically be visually and instrument positive, but in some cases no organism will be seen on Gram stain or recovered on routine subculture. If an anaerobic vial was also inoculated, the organism can usually be recovered by performing an aerobic subculture of the anaerobic vial, since this organism has been reported to grow well under anaerobic conditions.[11]

General Considerations

Optimum recovery of isolates will be achieved by adding maximum amounts of blood. Use of lower volumes may adversely affect recovery and/or detection times of organisms such as *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus*. Blood may contain antimicrobials or other inhibitors which may slow or prevent the growth of microorganisms. False negative readings may result when certain organisms are present which do not produce enough CO_2 to be detected by the system or if significant growth has occured before placing the vial into the system. False positivity may occur when the white blood cell count is high.

Due to the nature of biological materials in media products and inherent organism variability, the user should be cognizant of potential variable results in the recovery of certain microorganisms.

EXPECTED VALUES AND SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Performance of the **BD BACTEC** Plus Aerobic/F and Plus Anaerobic/F media has been established by a number of external clinical studies.[1-3,8,9] Seeded laboratory studies performed by BD have shown equivalent performance of the **BD BACTEC** Plus Aerobic/F and Plus Anaerobic/F media to nonradiometric **BACTEC** Plus 26 and Plus 27.[10]

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
442192	**BD BACTEC™** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC™** Plus Anaerobic/F Medium

REFERENCES

1. Wallis, C. et al. 1980. Rapid isolation of bacteria from septicemic patients by use of an antimicrobial agent removal device. J. Clin. Microbiol. *11*:462-464.
2. Applebaum, P.C. et al. 1983. Enhanced detection of bacteremia with a new **BACTEC** resin blood culture medium. J. Clin. Microbiol. *17*:48-51.
3. Pohlman, J.K. et al. 1995. Controlled clinical comparison of Isolator and **BACTEC** 9240 Aerobic/F resin bottle for detection of bloodstream infections. J. Clin. Microbiol. *33*:2525-2529.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. *17*: 53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Smith, J.A. et al. 1995. Comparison of **BACTEC** 9240 and BacT/Alert blood culture systems in an adult hospital. J. Clin. Microbiol. *33*:1905-1908.
9. Flayhart, D. et al. 2007. Comparison of **BACTEC** Plus blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. J. Clin. Microbiol. *45*:816-821.
10. Data available from BD Diagnostics.
11. Howden, R.J. 1976. Use of anaerobic culture for the improved isolation of *Streptococcus pneumoniae*. J. Clin. Pathol. *29*:50-53.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials et BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Flacons de culture)

Bouillon digéré de soja-caséine

Français

APPLICATION
Les milieux **BD BACTEC** Plus Aerobic/F et Plus Anaerobic/F servent à une procédure qualitative de culture aérobie ou anaérobie et de mise en évidence des microorganismes (bactéries et levures) du sang. Ces milieux sont essentiellement utilisés avec les appareils **BD BACTEC** de la série à fluorescence.

RESUME ET EXPLICATION
L’échantillon à analyser est ensemencé dans un ou plusieurs flacons qui sont ensuite placés dans un appareil **BACTEC** de la série à fluorescence pour être incubés et lus périodiquement. Chaque flacon contient un détecteur chimique qui détecte toute augmentation en CO_2 résultant de la croissance des microorganismes. L’appareil contrôle ce détecteur toutes les dix minutes en recherchant une augmentation de la fluorescence qui est proportionnelle à la quantité de CO_2 présent. Une lecture positive indique la présence présumée de microorganismes viables dans le flacon. La détection se limite aux microorganismes pouvant se développer dans un type particulier de milieu de culture.

Des résines ont été décrites pour préparer les échantillons de sang avant et après leur ensemencement sur les milieux de culture. De telles résines ont été incorporées dans les milieux de culture **BACTEC** afin d’améliorer la mise en évidence des microorganismes sans avoir à recourir à des préparations spéciales.[1-3]

PRINCIPES DE LA METHODE
Si des microorganismes sont présents dans l’échantillon inoculé dans le flacon **BACTEC**, ils métabolisent les substrats contenus dans le flacon et produisent du CO_2. L’appareil **BACTEC** de la série à fluorescence surveille à la recherche de toute augmentation de la fluorescence du détecteur du flacon due à un accroissement de la quantité de CO_2. L’analyse de l’accroissement, taux et quantité, du CO_2 permet à l’appareil **BACTEC** de la série à fluorescence de déterminer si le flacon est positif, c’est-à-dire si l’échantillon contient des organismes viables.

REACTIFS
Avant traitement, les flacons de culture **BACTEC** contiennent les réactifs suivants :

Liste des composants	**BACTEC Plus Aerobic/F**	**BACTEC Plus Anaerobic/F**
Eau traitée	30 mL*	25 mL
	poids/vol	poids/vol
Bouillon digéré de soja-caséine	3,0%	3,0%
Extrait de levure	0,25%	0,4%
Digestion de tissus animaux	———	0,05%
Acides aminés	0,05%	0,25%
Sucre	———	0,25%
Citrate de sodium	———	0,02%
Polyanétholsulfonate de sodium (PSS)	0,05%	0,05%
Vitamines	0,025%	0,0006%
Antioxydants/réducteurs	0,005%	0,16%
Résine adsorbante non ionique	16,0%	16,0%
Résine échangeuse de cations	1,0%	1,0%

Tous les milieux **BACTEC** sont fournis avec CO_2. Les milieux anaérobies sont préréduits et fournis avec CO_2 et N_2.
*Le volume du milieu dans le flacon **BACTEC** Plus Aerobic/F a été augmenté de 25 mL à 30 mL.

Avertissements et précautions :

Les flacons de culture fournis sont destinés au diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les " Précautions standard "[4-7] et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

Avant utilisation, il convient d'examiner les flacons pour vérifier l'absence de toute contamination, à savoir turbidité, bouchon protubérant ou enfoncé, ou de fuite. NE PAS UTILISER les flacons présentant des signes de contamination. Les flacons contaminés peuvent être sous pression. Si un flacon contaminé est utilisé pour un prélèvement direct, des gaz ou du milieu contaminé pourraient être refoulés dans la veine du patient. La contamination du flacon peut ne pas être visible. Si une procédure de prélèvement direct est utilisée, surveillez de près la procédure pour éviter tout reflux de matériaux dans le patient.

Avant utilisation, il convient d'examiner les flacons pour vérifier l'absence d'endommagement ou de détérioration. Ne pas utiliser un flacon dont le milieu est trouble, contaminé ou décoloré (foncé). Occasionnellement, il peut arriver que le goulot d'un flacon en verre soit fêlé et se rompe lors du retrait de la capsule de protection ou pendant les manipulations. Il peut aussi arriver qu'un flacon ne soit pas hermétiquement bouché. Dans les deux cas, le contenu du flacon risque de fuir ou de se répandre, surtout si le flacon est inversé. Si le flacon a été ensemencé, traiter la fuite ou le liquide répandu avec précaution en raison de la présence éventuelle de microorganismes ou d'agents pathogènes. Stériliser à l'autoclave les flacons ensemencés avant de les jeter.

Flacons contenant une culture positive destinée au repiquage ou à la coloration, etc. : avant de faire un prélèvement, il est nécessaire de libérer tout gaz accumulé résultant du métabolisme bactérien. Les prélèvements doivent être effectués dans une hotte biologique de sécurité, si possible, et il convient de porter des vêtements de protection appropriés, dont gants et masque. Pour plus d'informations sur le repiquage, voir la rubrique Méthode.

Afin de minimiser les risques de fuite pendant l'ensemencement des échantillons dans les flacons de culture, utiliser des seringues munies d'aiguilles ou d'embouts **Luer-Lok** inamovibles.

Instructions pour la conservation

Les flacons **BACTEC** sont reçus prêt à l'emploi et ne demandent aucune reconstitution ou dilution. Les conserver dans un endroit frais et sec (2 à 25 °C), **à l'abri de la lumière directe**.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Les échantillons doivent être recueillis de façon aseptique afin de réduire les risques de contamination. Le volume d'échantillon conseillé est de 8 à 10 mL. Il est conseillé d'ensemencer les flacons **BACTEC** au chevet du malade. On peut utiliser une seringue de 10cc ou 20cc avec un embout **Luer-Lok** pour prélever l'échantillon, ou encore un porte-aiguille **Vacutainer** et un système de prélèvement sanguin **Vacutainer**, un système de prélèvement sanguin **Vacutainer Safety-Lok** ou autre système à ailettes. Si on utilise une aiguille et un système de tubes (prélèvement direct), il faut observer soigneusement la direction du flot sanguin au moment où le prélèvement de l'échantillon est démarré. Le vide dans le flacon en général dépasse 10 mL, de sorte que l'utilisateur doive surveiller le volume prélevé au moyen des graduations de 5 mL sur l'étiquette du flacon. Des petits volumes d'échantillons de l'ordre de 3 mL peuvent être utilisés, toutefois la mise en évidence ne sera pas aussi bonne qu'avec les plus grands volumes. **Le flacon BACTEC inoculé doit être envoyé le plus rapidement possible au laboratoire.**

METHODE

Retirer la capsule de protection du flacon **BACTEC** et vérifier l'absence de fissure, de contamination, de turbidité excessive, de bouchon protubérant ou en dépression. **NE PAS UTILISER** le flacon si on note un tel défaut. Avant d'ensemencer, tamponner le bouchon avec de l'alcool (l'utilisation d'iode N'est **PAS** recommandée). Injecter aseptiquement ou extraire directement 8 à 10 mL d'échantillon par flacon. Si des volumes d'échantillon de l'ordre de 3 à 7 mL sont utilisés, la mise en évidence ne sera pas aussi importante qu'avec les plus grands volumes (voir Limites de la méthode). **Les flacons aérobies et anaérobies ensemencés doivent être placés dans l'appareil BACTEC de la série à fluorescence dès que possible** pour être incubés et suivis. Si le placement dans l'appareil d'un flacon ensemencé a été retardé et qu'une croissance est visible, il ne doit pas être testé dans l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, mais plutôt il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et traité comme un flacon présumé positif.

Les flacons placés dans l'appareil seront automatiquement testés toutes les 10 minutes pendant toute la durée du protocole de test. Les flacons positifs seront reconnus et identifiés comme tels par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence (voir le manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié). Le détecteur à l'intérieur du flacon n'apparaîtra pas visiblement différent dans les flacons positifs et les flacons négatifs, mais l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence sera lui capable de déterminer une différence dans la fluorescence.

Si à la fin de la période de test, un flacon négatif apparaît visuellement positif (par ex., sang couleur chocolat, bouchon protubérant, sang lysé et/ou très sombre dans un milieu **BACTEC** Plus Aerobic), il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et traité comme un positif présumé.

Les flacons positifs doivent être repiqués et soumis à une coloration de Gram. Dans la grande majorité des cas, les organismes seront visibles et un rapport préliminaire pourra être fait au médecin. Les repiquages sur milieux solides et un test préliminaire direct de sensibilité aux antibiotiques pourront être préparés directement à partir du liquide dans les flacons **BACTEC**.

Repiquage : Avant d'effectuer un repiquage, poser le flacon debout et placer un coton imbibé d'alcool sur le bouchon. Pour relâcher la pression dans le tube, utiliser un évent approprié (référence BD n° 249560) ou équivalent. L'aiguille doit être retirée après le relâchement de la pression et avant de faire un prélèvement pour repiquage. L'insertion et le retrait de l'aiguille doivent être faits avec un mouvement rectiligne, en évitant tout mouvement de torsion.

CONTROLE DE QUALITE

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations locales, nationales et/ou internationales en vigueur, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités du contrôle de qualité.

NE PAS UTILISER les flacons de culture au-delà de leur date de péremption.

NE PAS UTILISER de flacon de culture fêlé ou défectueux ; éliminer ces flacons conformément aux procédures en vigueur.

Des certificats de contrôle de qualité se trouvent dans chaque carton de milieux. Les certificats de contrôle de qualité dressent la liste des microorganismes de test, y compris les cultures ATCC spécifiées dans la norme CLSI M22, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. Le délai de détection en heures était ≤ 72 heures pour chacun des organismes figurant sur le certificat de contrôle de qualité pour ce milieu.

Organismes pour le milieu aérobie

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Organismes pour le milieu anaérobie

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Souche recommandée par le CLSI*

Pour une information concernant le Contrôle Qualité pour l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié.

RESULTATS

Un échantillon positif est identifié par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence et signale la présence présumée de microorganismes viables dans le flacon.

LIMITES DE LA METHODE

Contamination

Il convient de veiller à ne pas contaminer l'échantillon au cours du prélèvement et de l'ensemencement dans le flacon **BACTEC**. Un échantillon contaminé donnera un résultat positif mais sans valeur pour le clinicien. Ceci peut être déterminé par l'utilisateur en fonction de facteurs tels que le type de microorganisme recueilli, la présence du même microorganisme dans plusieurs cultures, les antécédents du malade, etc.

Culture d'organismes sensibles au PSS à partir de sang

Compte tenu du fait que le sang peut neutraliser la toxicité du PSS envers les organismes sensibles au PSS, la présence de volumes maximaux de sang (de 8 à 10 mL) peut aider à l'optimisation de la mise en évidence de ces organismes. Pour augmenter la croissance d'organismes sensibles au PSS quand un volume de sang inférieur à 8 mL est ensemencé, on peut ajouter du sang humain total ou du sang de mouton défibriné.

Certains organismes fastidieux, telles que certains espèces d'*Haemophilus*, demandent des facteurs de criossance, tels que du NAD ou du facteur V ; ces facteurs sont fournis par l'échantillon de sang. Advenant que le volume de l'échantillon sanguin soit 3,0 mL ou moins, un supplément nutritionnel approprié peut être nécessaire afin de permettre la mise en évidence de ces organismes.

Le Supplément **FOS BACTEC** pour organismes difficiles, du sang humain complet ou du sang de mouton défibriné peuvent être utilisés comme supplément nutritionnel.

Organismes non-viables

Il arrive qu'un frottis à coloration de Gram fait à partir d'un milieu de culture contienne un petit nombre de microorganismes non-viables dérivés des composants du milieu, des réactifs de coloration, de l'huile d'immersion, des lames de verre et/ou des échantillons utilisés pour l'ensemencement. De plus, l'échantillon du patient peut contenir des organismes qui ne se développent pas dans le milieu de culture ou dans les milieux de repiquage. Dans ce cas, il convient de repiquer les échantillons dans des milieux spéciaux selon les besoins.

Activité antimicrobienne

La neutralisation de l'activité antimicrobienne par les résines varie selon le niveau de dosage et le moment du prélèvement de l'échantillon. L'utilisation d'additifs supplémentaires devra être considérée dans des situations appropriées; par exemple, l'addition de pénicillinase lorsqu'un traitement à base de β-lactame est utilisé.

Pour tout renseignement concernant les agents antimicrobiens neutralisés par les résines **BACTEC**, contacter les Services Techniques de Becton Dickinson.

Mise en évidence de *Streptococcus pneumoniae*

Dans les milieux aérobies, *S. pneumoniae* donne généralement un résultat positif, visuellement et par l'appareil, mais il peut arriver qu'aucun organisme ne soit détecté sur la coloration de Gram ou mis en évidence dans les repiquages de routine. Si l'on a aussi ensemencé un flacon anaérobie, cet organisme peut en général être mis en évidence par un repiquage aérobie du flacon anaérobie puisqu'il a été rapporté que cet organisme se développe généralement bien en conditions anaérobies.[11]

Considérations générales

Une mise en évidence optimale des isolats peut être accomplie en ajoutant des quantités maximales de sang. L'utilisation de volumes inférieurs peut avoir une influence défavorable sur les temps de mise en évidence et/ou de détection d'organismes tels que *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus*. Le sang peut contenir des agents antimicrobiens ou d'autres inhibiteurs qui peuvent ralentir ou empêcher la croissance des microorganismes. Des cultures faussement négatives peuvent être observées en présence de certains microorganismes qui produisent du CO_2 en quantité insuffisante pour être détecté par le système ou si une croissance considérable s'est produite avant l'introduction du flacon dans le système. Une fausse positivité peut survenir quand le nombre de globules blancs est élevé.

En raison de la nature des matériaux biologiques présents dans les milieux et de la variabilité inhéherente aux organismes, l'utilisateur doit savoir qu'une variation des résultats est possible lors de la mise en évidence de certains microorganismes.

VALEURS ATTENDUES ET CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES DE PERFORMANCES

La performance des milieux **BD BACTEC** Plus Aerobic/F et Plus Anaerobic/F a été établie par un certain nombre d'études cliniques externes.[1-3,8,9] Des études de laboratoire sur échantillons ensemencés effectuées par BD ont montré que la performance des milieux **BD BACTEC** Plus Aerobic/F et Plus Anaerobic/F était équivalente à celle des appareils non radiométriques **BACTEC** Plus 26 et Plus 27.[10]

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

REFERENCES: voir la rubrique "References" du texte anglais

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials und BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Kulturfläschchen)

Casein-Soja-Pepton-Bouillon

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

BD BACTEC Plus Aerobic/F- und Plus Anaerobic/F-Medien werden in einem qualitativen Verfahren zur Kultivierung aerober und anaerober Mikroorganismen sowie zur Isolierung von Mikroorganismen (Bakterien und Hefepilzen) aus Blut eingesetzt. Die Medien werden vornehmlich zusammen mit den **BD BACTEC**-Geräten der Fluoreszenz-Serie verwendet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Ein oder mehrere Fläschchen, die zur Inkubation und regelmäßigen Messung in das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie gestellt werden, werden mit der zu testenden Probe inokuliert. Jedes Fläschchen ist mit einem chemischen Sensor ausgestattet, mit dem gemessen werden kann, wenn der CO_2-Gehalt durch das Wachstum von Mikroorganismen ansteigt. Das Gerät überprüft alle zehn Minuten, ob der Sensor einen Fluoreszenzanstieg anzeigt, der proportional zum aktuellen CO_2-Gehalt ist. Ein positiver Befund zeigt die präsumtive Anwesenheit von lebensfähigen Mikroorganismen im Fläschchen an. Der Nachweis ist auf die in einer bestimmten Medienart zum Wachstum fähigen Mikroorganismen beschränkt.

Kunstharze wurden zur Behandlung von Blutproben vor und nach ihrer Inokulation in Kulturmedien in der Literatur beschrieben. Die Kunstharze wurden den **BACTEC**-Kulturmedien zugesetzt, um die Isolierung von Organismen zu verbessern, ohne dass dabei besondere Aufbereitungsschritte nötig werden.[1-3]

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Falls die in das **BACTEC**-Fläschchen inokulierte Probe Mikroorganismen enthält, wird beim Abbau der in dem Fläschchen enthaltenen Substrate durch die Organismen CO_2 erzeugt. Das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie überwacht den durch den höheren CO_2-Gehalt verursachten Fluoreszenzanstieg des Sensors im Fläschchen. Durch die Analyse der CO_2-Anstiegsrate und der Zunahme des

CO_2-Gehalts kann das **BACTEC-**Gerät der Fluoreszenz-Serie feststellen, ob die Probe lebensfähige Mikroorganismen enthält und der Befund für das Fläschchen somit positiv ist.

REAGENZIEN

Die **BACTEC**-Kulturfläschchen enthalten vor der Aufbereitung die folgenden reaktiven Bestandteile:

Liste der Bestandteile	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Demineralisiertes Wasser	30 mL*	25 mL
	Gew./Vol.	Gew./Vol.
Casein-Soja-Pepton-Bouillon	3,0%	3,0%
Hefeextrakt	0,25%	0,4%
Abgebautes Tiergewebe	———	0,05%
Aminosäuren	0,05%	0,25%
Zucker	———	0,25%
Natriumcitrat	———	0,02%
Natriumpolyanetholsulfonat (NPS)	0,05%	0,05%
Vitamine	0,025%	0,0006%
Antioxidantien/Reduktionsmittel	0,005%	0,16%
Nicht ionisches Adsorptionsharz	16,0%	16,0%
Kationenaustauscherharz	1,0%	1,0%

Alle **BACTEC**-Medien werden mit CO_2-Zusatz abgefüllt. Anaerobe Medien werden vorreduziert und mit CO_2 und N_2 abgefüllt.

*Das Mediumvolumen im **BACTEC** Plus Aerobic/F-Kulturfläschchen wurde von 25 mL auf 30 mL erhöht.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

Die gebrauchsfertigen Kulturfläschchen sind zur *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, darunter auch Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die “Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen”[4-7] sowie die einschlägigen Richtlinien der jeweiligen Einrichtung zu beachten.

Vor Gebrauch muss jedes Fläschchen auf Anzeichen von Kontamination wie Trübung, Wölbung oder Einbeulung des Septums oder auf undichte Stellen untersucht werden. Fläschchen, die Anzeichen von Kontamination aufweisen, NICHT VERWENDEN. Kontaminierte Fläschchen können Überdruck erzeugen. Wenn kontaminierte Fläschchen zur direkten Blutentnahme verwendet werden, können Gas oder kontaminierte Kulturmedien in die Vene des Patienten zurückgeführt werden. Die Kontamination eines Fläschchens ist nicht in allen Fällen sichtbar. Bei direkter Blutentnahme sollte der Entnahmevorgang genau überwacht werden, um einen Rückfluss von Substanzen in die Vene des Patienten zu vermeiden.

Die Fläschchen müssen vor Gebrauch auf Anzeichen von Beschädigung oder Verfall des Inhalts untersucht werden. Fläschchen, die Trübung, Kontamination oder Verfärbung (Dunkelwerden) aufweisen, dürfen nicht verwendet werden. In seltenen Fällen kann der gläserne Fläschchenhals einen Sprung haben und beim Entfernen des Abrissdeckels oder während der Handhabung des Fläschchens brechen. Auch kann es in seltenen Fällen vorkommen, dass ein Fläschchen nicht richtig verschlossen ist. In beiden Fällen ist es möglich, dass der Fläschcheninhalt ausläuft oder verschüttet wird, besonders wenn das Fläschchen auf den Kopf gestellt wird. Falls das betreffende Fläschchen bereits inokuliert war, muss das ausgelaufene oder verschüttete Medium mit äußerster Vorsicht behandelt werden, da es pathogene Organismen oder Erreger enthalten kann. Vor ihrer Entsorgung müssen alle inokulierten Fläschchen im Autoklaven sterilisiert werden.

Positive Kulturfläschchen zur Subkultivierung oder Färbung usw.: Vor der Probenentnahme muss Gas abgelassen werden, das sich häufig als Folge mikrobiellen Stoffwechsels ansammelt. Die Probenentnahme sollte möglichst in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, und Schutzkleidung, einschließlich Handschuhe und Gesichtsmaske, sollte getragen werden. Nähere Einzelheiten zur Subkultivierung sind dem Abschnitt “Verfahren” zu entnehmen.

Um potentiellen Sickerverlust bei der Inokulation von Proben in die Kulturfläschchen so weit wie möglich auszuschließen, sollten Spritzen mit fest eingesetzten Kanülen oder mit **Luer-Lok**-Kegeln verwendet werden.

Aufbewahrung

Die **BACTEC**-Fläschchen werden gebrauchsfertig geliefert und erfordern keine Rekonstituierung oder Verdünnung. Kühl und trocken (2 – 25 °C) lagern und **vor direkter Lichteinstrahlung schützen**.

PROBENENTNAHME

Die Proben müssen unter Anwendung steriler Verfahren entnommen werden, um das Risiko von Kontamination zu verringern. Die empfohlene Probenmenge ist 8 – 10 mL. Es wird empfohlen, die Probe am Krankenbett in die **BACTEC**-Fläschchen zu inokulieren. Zur Blutentnahme können eine 10-cc- oder 20-cc-Spritze mit **Luer-Lok**-Kegel oder ein **Vacutainer**-Kanülenhalter und ein **Vacutainer**-Blutentnahme-Set, ein **Vacutainer Safety-Lok**-Blutentnahme-Set oder ein anderes Butterfly-Schlauchset verwendet werden. Beobachten Sie bei Verwendung einer Kanüle und eines Schlauchsets (direkte Blutentnahme) genau die Richtung des Blutflusses, wenn Sie mit der Probenentnahme beginnen. Das Luftvolumen im Fläschchen beträgt i. d. R. über 10 mL. Daher sollte der Anwender die entnommene Probenmenge anhand der 5-mL-Einteilung auf dem Etikett des Fläschchens überprüfen. Ein Probenvolumen von nur 3 mL kann zwar verwendet werden, eignet sich aber nicht so gut zur Isolierung von Mikroorganismen wie größere Volumina. **Das inokulierte BACTEC-Fläschchen sollte so schnell wie möglich zum Labor geschickt werden.**

VERFAHREN

Den Abrissdeckel auf dem **BACTEC**-Fläschchen entfernen und das Fläschchen auf Sprünge, Kontamination, starke Trübung und Wölbung oder Einbeulung der Septa überprüfen. Defekte Fläschchen **NICHT VERWENDEN**. Vor dem Inokulieren das Septum mit Alkohol abtupfen (die Verwendung von Jod wird **NICHT** empfohlen). Pro Fläschchen 8 - 10 mL der Probe aseptisch injizieren oder direkt entnehmen. Probenvolumina zwischen 3 und 7 mL eignen sich nicht so gut zur Isolierung von Mikroorganismen wie größere

Volumina (siehe “Verfahrensbeschränkungen”). **Inokulierte aerobe und anaerobe Fläschchen sollten so schnell wie möglich** zur Inkubation und Überwachung **in das BACTEC-Gerät der Fluoreszenz-Serie gestellt werden**. Wenn ein inokuliertes Fläschchen nicht rechtzeitig in das Gerät gestellt wurde und Wachstum erkennbar ist, sollte es nicht im **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie getestet werden. Stattdessen sollte eine Subkultur angelegt, gramgefärbt und die Probe als präsumtiv positives Fläschchen behandelt werden.

Sobald Fläschchen in das Gerät gestellt werden, werden sie während der Testprotokollaufnahme-Periode automatisch alle 10 Minuten getestet. Positive Fläschchen werden vom **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie ermittelt und als positiv identifiziert (siehe Benutzerhandbuch des entsprechenden **BACTEC**-Geräts der Fluoreszenz-Serie). Bei positiven und negativen Fläschchen ist am Sensor im Fläschchen kein sichtbarer Unterschied zu erkennen. Das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie kann jedoch einen Unterschied bei der Fluoreszenz feststellen.

Wenn ein negatives Fläschchen nach der Testperiode bei Sichtprüfung positiv erscheint (d. h. das Blut im **BACTEC** Plus Aerob-Medium schokoladenartig, lysiert und/oder stark verdunkelt bzw. das Septum gewölbt aussieht), sollte eine Subkultur angelegt, gramgefärbt und die Probe als präsumtiv positiv behandelt werden.

Für positive Fläschchen sollte eine Subkultur angelegt und eine Gramfärbung durchgeführt werden. In den meisten Fällen sind Organismen erkennbar, so dass dem Arzt ein vorläufiger Befund vorgelegt werden kann. Subkulturen der entsprechenden Festmedien und ein direkter antimikrobieller Empfindlichkeits-Vorabtest können mit der Flüssigkeit in den **BACTEC**-Fläschchen zubereitet werden.

Subkultivierung: Vor der Subkultivierung das Fläschchen aufrecht stellen und das Septum mit einem Alkoholtupfer abdecken. Zur Entlüftung des Fläschchens wird der Gebrauch einer geeigneten Entlüftungseinheit (BD-Bestell-Nr. 249560) oder einer vergleichbaren Vorrichtung empfohlen. Nach Entweichen des Überdrucks und vor der Probenentnahme für Subkulturen sollte die Entlüftungskanüle entfernt werden. Das Einstechen und Zurückziehen der Kanüle sollte mit einer geradlinigen Bewegung ohne Drehungen ausgeführt werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, sich über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle an die einschlägigen CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften zu halten.

Die Kulturfläschchen dürfen **NICHT** nach dem Verfallsdatum verwendet werden.

Fläschchen, die Sprünge oder Beschädigungen aufweisen, dürfen **NICHT VERWENDET** werden; Fläschchen ordnungsgemäß entsorgen.

Qualitätskontrollzertifikate sind jedem Karton mit Medien beigefügt. In den Qualitätskontrollzertifikaten sind Testorganismen, einschließlich im CLSI-Standard M22, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*, spezifizierte ATCC-Kulturen, aufgeführt. Der Nachweiszeitraum in Stunden für jeden im Qualitätskontrollzertifikat für dieses Medium aufgeführten Organismus lag bei ≤ 72 Stunden.

In aeroben Medien kultivierte Organismen

Neisseria meningitidis
ATCC 13090

Haemophilus influenzae
ATCC 19418

*Streptococcus pneumoniae**
ATCC 6305

Streptococcus pyogenes
ATCC 19615

Pseudomonas aeruginosa
ATCC 27853

Candida glabrata
ATCC 66032

Staphylococcus aureus
ATCC 25923

Escherichia coli
ATCC 25922

Alcaligenes faecalis
ATCC 8750

In anaeroben Medien kultivierte Organismen

Clostridium perfringens
ATCC 13124

*Bacteroides fragilis**
ATCC 25285

Bacteroides vulgatus
ATCC 8482

Streptococcus pneumoniae
ATCC 6305

Escherichia coli
ATCC 25922

Staphylococcus aureus
ATCC 25923

**Vom CLSI empfohlener Stamm*

Informationen bezüglich der Qualitätskontrolle für Ihr **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie finden Sie im Benutzerhandbuch des betreffenden Geräts.

ERGEBNISSE

Positive Proben werden vom **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie ermittelt. Ein positiver Befund zeigt die präsumtive Anwesenheit von lebensfähigen Mikroorganismen im Fläschchen an.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Kontamination

Die Kontamination der Proben während der Entnahme und der Inokulation in die **BACTEC**-Fläschchen muß sorgfältig vermieden werden. Eine kontaminierte Probe ergibt einen positiven Wert ohne klinische Relevanz. Eine entsprechende Beurteilung muß vom Anwender auf der Basis von Faktoren wie z.B. der Art des isolierten Organismus, des Vorkommens desselben Organismus in mehreren Kulturen, der Anamnese des Patienten usw. vorgenommen werden.

Isolierung NPS-empfindlicher Organismen aus Blutproben

Weil Blut die Toxizität von NPS gegenüber NPS-empfindlichen Organismen neutralisieren kann, können maximale Blutmengen (8 – 10 mL) dazu beitragen, die Isolierung dieser Organismen zu optimieren. Wenn weniger als 8 mL Blut inokuliert worden sind, können zur Wachstumsverbesserung NPS-empfindlicher Organismen Human-Vollblut oder defibriniertes Schafsblut zugegeben werden.

Einige anspruchsvolle Organismen wie z.B. bestimmte *Haemophilus*-Spezies, benötigen die in der Blutprobe enthaltenen Wachstumsfaktoren, wie z.B. NAD oder Faktor V. Wenn das Volumen der Blutprobe 3,0 mL oder weniger ist, benötigt man zur Isolierung dieser Organismen u.U. eine entsprechende Anreicherung. **BACTEC FOS**-Anreicherung für anspruchsvolle Organismen, Human-Vollblut oder defibriniertes Schafsblut können als Wachstumsanreicherung verwendet werden.

Nicht lebensfähige Organismen

Ein gramgefärbter Ausstrich von Kulturmedien kann gelegentlich eine kleine Anzahl nicht lebensfähiger Organismen enthalten, die aus Medienbestandteilen, Färbungsreagenzien, Immersionsöl, Objektträgern oder aus den für die Inokulation verwendeten Proben stammen können. Außerdem kann die Probe eines Patienten Organismen enthalten, die im Kulturmedium oder in den für Subkulturen verwendeten Medien nicht wachsen. Subkulturen solcher Proben sollten ggf. in besonderen Spezialmedien angelegt werden.

Antimikrobielle Aktivität

Der Grad der Neutralisierung antimikrobieller Aktivität durch Kunstharze variiert und hängt von der Dosierung und dem Zeitpunkt der Proben-entnahme ab. Die Verwendung ergänzender Additive sollte in entsprechenden Situationen erwogen werden; so kann z.B. in Fällen, in denen β-lactam-Therapie angewandt wird, Penizillinase hinzugefügt werden.

Informationen bezüglich der Neutralisierung antimikrobieller Substanzen durch **BACTEC**-Kunstharze erhalten Sie von Ihrem Becton Dickinson technischen Kundendienst unter der unten aufgeführten Telefonnummer.

Isolierung von *Streptococcus pneumoniae*

Positive Kulturen von *S. pneumoniae* sind in aeroben Medien normalerweise optisch erkennbar und mit Geräten nachweisbar. In einigen Fällen wird ein Organismus jedoch weder im Gramausstrich sichtbar, noch kann er bei der üblichen Subkultivierung isoliert werden. Wenn zudem ein anaerobes Fläschchen inokuliert wurde, kann der Organismus zumeist durch Anlegen einer aeroben Subkultur aus dem anaeroben Fläschchen isoliert werden, da er vorliegenden Berichten zufolge unter anaeroben Bedingungen gut wächst.[11]

Allgemeine Erwägungen

Eine optimale Ausbeute an Isolaten wird durch die Zugabe maximaler Blutmengen erzielt. Die Verwendung kleinerer Volumina kann die Isolierung bzw. die Nachweiszeiten von Organismen wie z.B. *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus* nachteilig beeinflussen. Blut kann antimikrobielle Substanzen oder andere Inhibitoren enthalten, die das Wachstum von Mikroorganismen verlangsamen oder verhindern können. Wenn bestimmte Organismen vorhanden sind, die nicht genug CO_2 produzieren, um vom Gerät festgestellt zu werden oder wenn das Fläschchen sichtbares Wachstum aufweist, bevor es in das Gerät gestellt wird, können sich falsch-negative Werte ergeben. Wenn das weiße Blutbild erhöht ist, können sich falsch-positive Werte ergeben.

Der Anwender sollte sich der Möglichkeit unterschiedlicher Ergebnisse beim Nachweis bestimmter Keime bewußt sein. Dies ist auf die Natur der in Kulturmedien enthaltenen biologischen Stoffe und auf die natürliche Variabilität von Mikroorganismen zurückzuführen.

ZU ERWARTENDE WERTE UND SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsfähigkeit der **BD BACTEC** Plus Aerob/F- und Plus Anaerob/F-Medien wurde in einer Reihe externer klinischer Studien ermittelt.[1-3,8,9] Laborstudien von BD mit beimpften Proben haben ergeben, dass die **BD BACTEC** Plus Aerob/F- and Plus Anaerob/F-Medien genauso leistungsstark sind wie die nicht radiometrischen Medien **BACTEC** Plus 26 und Plus 27.[10]

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

LITERATUR: S. “References” im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials e BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Flaconi di coltura)

Brodo di estratto di caseina di soia

Italiano

USO PREVISTO

I terreni **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F sono usati in una procedura qualitativa per la coltura e il recupero in aerobiosi e anaerobiosi di microrganismi (batteri e lieviti) da sangue. Questi terreni vengono principalmente usati con gli strumenti **BD BACTEC** della serie fluorescente.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il campione da testare è inoculato in uno o più flaconi, che vengono inseriti nello strumento **BACTEC** della serie fluorescente per l’incubazione e la lettura periodica. Ogni flacone contiene un sensore chimico in grado di rilevare aumenti nella CO_2 prodotta dalla crescita dei microrganismi. Ogni dieci minuti, lo strumento monitora il sensore al fine di rilevare un aumento nella fluorescenza, che è proporzionale alla quantità di CO_2 presente. Una lettura positiva indica la presenza presuntiva di microrganismi vitali nel flacone. La rilevazione si limita ai microrganismi che crescono in un particolare tipo di terreno.

L’utilizzo di resine è stato descritto per il trattamento di campioni di sangue prima e dopo il rispettivo inoculo nei terreni di coltura. Le resine sono state incorporate nei terreni di coltura **BACTEC** per migliorare il recupero di microrganismi senza necessità di trattamenti speciali.[1-3]

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Se nel campione inoculato nel flacone **BACTEC** sono presenti microrganismi, questi metabolizzano i substrati presenti nel flacone, producendo così CO_2. Gli aumenti nella fluorescenza del sensore del flacone, causati dalla maggiore quantità di CO_2, vengono monitorati dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente. L’analisi delle velocità e dell’entità dell’aumento di CO_2 consente allo strumento **BACTEC** della serie fluorescente di determinare se il flacone è positivo, ossia che il campione contiene microrganismi vitali.

REAGENTI
Prima del trattamento, i flaconi di coltura **BACTEC** contengono i reagenti seguenti:

Elenco degli ingredienti	**BACTEC Plus Aerobic/F**	**BACTEC Plus Anaerobic/F**
Acqua purificata	30 mL*	25 mL
	peso/vol	peso/vol
Brodo digerito di soia-caseina	3,0%	3,0%
Estratto di lievito	0,25%	0,4%
Digerito di tessuto animale	———	0,05%
Aminoacidi	0,05%	0,25%
Zucchero	———	0,25%
Citrato di sodio	———	0,02%
Sodio polianetolsulfonato (SPS)	0,05%	0,05%
Vitamine	0,025%	0,0006%
Antiossidanti/riducenti	0,005%	0,16%
Resina adsorbente anionica	16,0%	16,0%
Resina a scambio cationico	1,0%	1,0%

Tutti i terreni di coltura **BACTEC** sono dispensati con CO_2 addizionata. I terreni anaerobi sono preridotti e dispensati con CO_2 e N_2.

*Il volume di terreno nel flacone **BACTEC** Plus Aerobic/F è stato aumentato da 25 mL to 30 mL.

Avvertenze e precauzioni:

I flaconi di coltura preparati sono destinati a uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida dell'istituto e alle "Precauzioni standard".[4-7]

Prima dell'uso, esaminare ogni flacone per escludere evidenze di contaminazione quali torpidità, rigonfiamento o schiacciamento del setto oppure perdite. NON USARE un flacone se presenta evidenza di contaminazione. Un flacone contaminato può avere pressione positiva. In caso di utilizzo di un flacone contaminato per prelievo diretto, il gas o il terreno di coltura contaminato potrebbe rifluire nella vena del paziente. La contaminazione del flacone può non essere immediatamente visibile. In caso di adozione della procedura di prelievo diretto, controllare il processo con estrema attenzione allo scopo di evirare il reflusso dei materiali nel paziente.

Prima dell'uso, esaminare i flaconi per escludere evidenza di danni o deterioramento. Non usare flaconi che presentano torbidità, contaminazione, alterazione di colore (assunzione di una colorazione più scura). In rare occasioni, il collo del flacone di vetro potrebbe essere incrinato e rompersi durante la rimozione del tappo o la manipolazione. Altrettanto raramente, è inoltre possibile che un flacone non sia stato sigillato in maniera sufficiente. In entrambe le eventualità, possono esservi perdite o fuoriuscite di contenuto, soprattutto in caso di capovolgimento del flacone. Se il flacone è stato inoculato, trattare la perdita o la fuoriuscita con cautela data la potenziale presenza di agenti/microrganismi patogeni. Prima di gettare i flaconi inoculati, sterilizzarli tutti mediante autoclavaggio.

Flaconi positivi usati per subcoltura o colorazione, ecc.: prima del campionamento, è necessario lasciare fuoriuscire il gas che spesso di accumula a causa del metabolismo microbico. Se possibile, eseguire il campionamento in camera biologica di sicurezza, indossando indumenti protettivi appropriati, inclusi maschere e guanti. Per ulteriori informazioni sulla procedura di subcoltura, vedere la sezione Procedura.

Per ridurre al minimo potenziali fuoriuscite durante l'inoculo dei campioni nei flaconi di coltura, usare siringhe con aghi fissi o punte con raccordo **Luer-Lok**.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, i flaconi **BACTEC** sono pronti per l'uso e non richiedono alcuna ricostituzione o diluizione. Conservare in luogo fresco e asciutto (2° – 25 °C), **al riparo da luce diretta**.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Prelevare il campione adottando tecniche sterili al fine di ridurre le possibilità di contaminazione. Il volume di campione raccomandato è 8 – 10 mL. Si raccomanda di inoculare i campioni nei flaconi **BACTEC** direttamente al letto del paziente. Per prelevare il campione, è possibile usare una siringa da 10 cc o 20 cc con puntale **Luer-Lok** oppure un porta-aghi **Vacutainer** e un set per prelievo ematico **Vacutainer**, un set per prelievo ematico **Vacutainer Safety-Lok** o altro set di tipo "butterfly" con cannula. In caso di utilizzo di un set ago - cannula (prelievo diretto), osservare attentamente la direzione del flusso ematico allorché si inizia la raccolta del campione. Il vuoto nella fiala supera di norma 10 mL; l'utente deve pertanto controllare il volume raccolto osservando le tacche di 5 mL sull'etichetta del flacone. È possibile usare campioni di volumi pari a soli 3 mL; il recupero non sarà tuttavia così consistente come nel caso di volumi più elevati. **I flaconi BACTEC inoculati devono essere inviati al laboratorio non appena possibile.**

PROCEDURA

Togliere il tappo dal flacone **BACTEC** e verificare che il flacone non presenti incrinature, contaminazione, eccessiva torbidità e intaccature o rigonfiamento del setto. **NON USARE** il flacone in presenza di un eventuale difetto. Prima dell'inoculo, disinfettare il setto con un tampone di alcol (lo iodio **NON** è raccomandato). Iniettare asetticamente o prelevare direttamente 8 – 10 mL di campione per flacone. In caso di impiego di campioni aventi volumi di 3 – 7 mL, il recupero non sarà così consistente come nel caso di volumi più elevati (vedere Limitazioni della procedura). **Collocare non appena possibile i flaconi aerobi e anaerobi inoculati nello strumento BACTEC della serie fluorescente** per l'incubazione e il monitoraggio. Se un flacone inoculato è collocato nello strumento in ritardo e presenta crescita già visibile, non deve essere testato nello strumento **BACTEC** della serie fluorescente, ma posto in subcultura, sottoposto a colorazione di Gram e trattato come un flacone presuntivamente positivo.

I flaconi collocati nello strumento vengono automaticamente testati ogni dieci minuti per la durata del periodo del protocollo di test. I flaconi positivi vengono identificati dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente e determinati come tali (vedere il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** della serie fluorescente appropriato). Il sensore all'interno del flacone non appare visibilmente diverso nei flaconi positivi e negativi; lo strumento **BACTEC** della serie fluorescente è tuttavia in grado di determinare una differenza nella fluorescenza.

Se al termine del periodo di test, un flacone negativo appare visivamente positivo (vale a dire sangue dall'aspetto di cioccolato, rigonfiamento del setto, sangue lisato e/o molto inscurito nel terreno **BACTEC** Plus Aerobic), deve essere posto in subcultura e sottoposto a colorazione di Gram e trattato come presuntivamente positivo.

I flaconi positivi devono essere posti in subcultura e sottoposti a colorazione di Gram. Nella stragrande maggioranza dei casi, vengono osservati microrganismi ed è possibile stilare un referto preliminare per il medico. La subcoltura su terreno di coltura solido e un test preliminare diretto di sensibilità agli antibiotici possono essere preparati utilizzando liquido prelevato dai flaconi **BACTEC**.

Subcoltura: prima della subcoltura, porre il flacone in posizione verticale e collocare un tampone imbevuto d'alcol sul setto. Per ridurre la pressione all'interno del flacone, usare un dispositivo di sfiato appropriato (n. di cat. BD 249560) o strumento equivalente. Una volta scaricata la pressione e prima della raccolta del campione per la subcultura, rimuovere l'ago. Inserire e retrarre l'ago con un movimento lineare, evitando torsioni.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità, si consiglia di consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia.

NON USARE i flaconi di coltura oltre la rispettiva data di scadenza.

NON USARE flaconi di coltura che presentano incrinature o difetti; eliminare il flacone in modo appropriato.

Certificati di controllo qualità sono forniti con ciascuna confezione di terreni. I certificati di controllo qualità riportano i microrganismi di controllo, incluse le colture ATCC specificate nella norma CLSI M22 *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. L'intervallo di tempo per la rilevazione in ore è stato ≤ 72 ore per ciascuno dei microrganismi elencati nel certificato di controllo di qualità per questo terreno:

Microrganismi per terreni aerobi

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Microrganismi per terreni anaerobi

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Ceppo raccomandato CLSI*

Per informazioni sul controllo di qualità per lo strumento **BACTEC** della serie fluorescente, consultare il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** della serie fluorescente appropriato.

RISULTATI

Un campione positivo, determinato come tale dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente, indica la presenza presuntiva di microrganismi vitali nel flacone.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Contaminazione

Fare attenzione a non contaminare il campione in fase di raccolta ed inoculazione nel flacone **BACTEC**. Un campione contaminato produrrà una lettura positiva senza significato clinico. Tale determinazione deve essere effettuata dall'analista sulla base di fattori quali: il tipo di organismo isolato, la presenza dello stesso organismo in svariate colture, la storia clinica del paziente, etc.

Isolamento di organismi sensibili al sodio polianetol sulfonato provenienti da campioni di sangue

Dato che il sangue può neutralizzare la tossicità del sodio polianetol sulfonato verso organismi sensibili al sodio polianetol sulfonato, la presenza di volumi di sangue massimi (8 mL – 10 mL) può aiutare nell'ottimizzare l'isolamento di questi organismi. Per favorire la crescita di organismi sensibili al sodio polianetol sulfonato quando si inoculano meno di 8 mL, si può aggiungere ulteriore sangue umano intero o defibrinato di pecora.

Certi organismi esigenti, come alcune specie di *Haemophilus*, hanno bisogno di fattori di crescita, quali la nicotinammide adenin dinucleotide, o il fattore V, che sono presenti nel campione di sangue. Nel caso di un campione molto piccolo (3,0 mL o meno), può rendersi necessario usare un supplemento adatto per l'isolamento di detti organismi. Come supplementi nutritivi si possono usare il Supplemento **FOS BACTEC** per organismi esigenti, sangue umano intero, o defibrinato di pecora.

Organismi non vivi
Uno striscio di Gram tratto da un terreno di coltura può a volte contenere una piccola quantità di organismi non vivi derivati dai costituenti dei terreni, dai reagenti di colorazione, dall'olio di immersione, dai vetrini e dai campioni usati per l'inoculazione. Inoltre, i campioni prelevati dal paziente possono contenere organismi che non si sviluppano nel terreno di coltura o nei terreni di subcoltura. Tali campioni dovrebbero essere subcolturati in terreni speciali.

Attività antimicrobica
La neutralizzazione dell'attività antimicrobica mediante resine varia a seconda del dosaggio e l'orario della raccolta del campione. Si dovrebbe considerare l'uso di additivi supplementari se appropriato; per esempio, l'aggiunta di penicillinase quando si usa la terapia β-lattamica.

Per informazioni sugli agenti antimicrobici neutralizzati dalle resine **BACTEC**, rivolgersi al servizio tecnico BD.

Isolamento dello *Streptococcus pneumoniae*
Tipicamente, lo *S. pneumoniae* viene riscontrato ad occhio nudo e mediante strumento nei terreni aerobi, anche se in alcuni casi questo organismo può non venire evidenziato con la colorazione di Gram e nelle subcolture abituali. Se si è inoculato anche un flacone anaerobio, in genere l'organismo può essere isolato eseguendo una subcoltura aerobia del flacone anaerobio, visto che è stata riscontrata una buona crescita di tale organismo in condizioni anaerobie.[11]

Considerazione di carattere generale
Per ottenere la massima quantità di isolati si aggiungano volumi massimi di sangue. L'uso di volumi più bassi può prolungare il tempo di isolamento e/o di rivelazione di organismi come *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus*. Il sangue può contenere antimicrobici o altri inibitori che possono rallentare o prevenire la crescita di microrganismi. Si possono avere risultati falsamente negativi in presenza di certi organismi che non producono CO_2 in quantità sufficiente alla ri-velazione da parte del sistema o quando si sia prodotta una crescita notevole prima dell'introduzione del flacone nel sistema. Si possono avere risultati falsamente po-sitivi quando il conteggio dei globuli bianchi è elevato.

A causa della natura del materiale biologico nei terreni e l'inerente variabilità degli organismi, l'analista dovrebbe conoscere i risultati potenzialmente variabili nel recupero di certi microrganismi.

VALORI ATTESI E CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE
Le prestazioni dei terreni **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F sono state stabilite da svariati studi clinici esterni.[1-3,8,9] Studi di semina condotti in laboratorio da BD hanno dimostrato per i terreni **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F prestazioni equivalenti a quelle di **BACTEC** Plus 26 e Plus 27 non radiometrici.[10]

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials y BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Frascos de cultivo)

Caldo digerido de soja-caseína

Español

APLICACION PREVISTA
Los medios de cultivo **BD BACTEC** Plus Aerobic/F y Plus Anaerobic/F se utilizan en procedimientos cualitativos para medios de cultivo aerobios y anaerobios y la recuperación de microorganismos (bacterias y levaduras) en sangre. Estos medios se usan principalmente con los instrumentos **BD BACTEC** de la serie fluorescente.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN
La muestra que se va a analizar se inocula en uno o más frascos que se introducen en el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente para su incubación y lectura periódica. Cada frasco contiene un sensor químico que puede detectar incrementos de CO_2 producidos por el crecimiento de microorganismos. El instrumento controla el sensor cada 10 minutos para detectar un aumento de la fluorescencia que es proporcional a la cantidad de CO_2 presente. Una lectura positiva indica la presencia de presuntos microorganismos viables dentro del frasco. La detección se limita a los microorganismos capaces de crecer en un tipo de medio determinado.

Se ha comprobado que las resinas sirven para el tratamiento de las muestras de sangre tanto antes como después de su inoculación en el medio de cultivo. Las resinas se han incorporado a los medios de cultivo **BACTEC** para mejorar la recuperación de microorganismos sin necesidad de un procesamiento especial.[1-3]

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO
Si existen microorganismos en la muestra inoculada en el frasco **BACTEC**, se producirá CO_2 cuando los microorganismos metabolizan los sustratos presentes en el vial. Los aumentos de fluorescencia del sensor del vial ocasionados por la mayor cantidad de CO_2 se monitorizan por el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente. El análisis de la tasa y la cantidad del aumento de CO_2 permite al instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente determinar si el vial es positivo, es decir, que la muestra contiene microorganismos viables.

REACTIVOS

Antes del procesamiento, los frascos de cultivo **BACTEC** contienen los siguientes ingredientes reactivos:

Lista de ingredientes	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Agua tratada	30 mL*	25 mL
	p/v	p/v
Caldo digerido de soja-caseína	3,0%	3,0%
Extracto de levadura	0,25%	0,4%
Digerido de tejido animal	———	0,05%
Aminoácidos	0,05%	0,25%
Azúcar	———	0,25%
Citrato sódico	———	0,02%
Polianetolsulfonato de sodio (SPS)	0,05%	0,05%
Vitaminas	0,025%	0,0006%
Antioxidantes/reductores	0,005%	0,16%
Resina adsorbente no iónica	16,0%	16,0%
Resina de intercambio catiónico	1,0%	1,0%

Todos los medios **BACTEC** se suministran con CO_2 añadido. Los medios anaerobios se prerreducen y se dispensan con CO_2 y N_2.
*El volumen de medio en el frasco **BACTEC** Plus Aerobic/F se ha aumentado de 25 mL a 30 mL.

Advertencias y precauciones:

Los frascos de cultivo preparados son para diagnóstico *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales, deben seguirse las “Precauciones estándar”[4-7] y las directivas del centro.

Se debe examinar cada frasco antes de usarlo para ver si presenta indicios de contaminación, por ejemplo, turbidez, membrana hinchada o hundida, o fugas. NO UTILIZAR ningún frasco que presente indicios de contaminación. Un frasco contaminado podría contener presión positiva. Si se utiliza un frasco para la toma directa, el gas o los medios de cultivo contaminados podrían penetrar por reflujo en la vena del paciente. Es posible que la contaminación de un frasco no se note fácilmente. Si se utiliza un método de toma directa, vigile bien el proceso para evitar el reflujo de materiales al paciente.

El usuario debe examinar los frascos antes de usarlos para ver si presentan indicios de daños o deterioro. Los frascos que muestren turbidez, contaminación, decoloración u oscurecimiento no deben utilizarse. En raras ocasiones, el cuello del frasco puede estar rajado y puede romperse al quitar la tapa a presión o al manipular el frasco. También, en raras ocasiones, es posible que un frasco no esté bien precintado. En ambos casos, el contenido de los frascos puede gotear o derramarse, especialmente si se invierte el frasco. Si se ha inoculado el frasco, se extremarán las precauciones al tratar la fuga o el derrame, ya que pueden existir organismos o agentes patógenos. Todos los frascos inoculados deben esterilizarse en autoclave antes de desecharse.

Frascos de cultivo positivo para subcultivo o para tinción, etc.: Antes de tomar las muestras es necesario liberar el gas que frecuentemente se acumula debido al metabolismo microbiano. La toma de muestras debe realizarse en lo posible en una cabina de seguridad biológica utilizando la indumentaria protectora adecuada, incluidos guantes y mascarilla. Consultar la sección de Procedimiento para mayor información acerca de los subcultivos.

Para reducir a un mínimo la posibilidad de pérdidas durante la inoculación de muestras en los frascos de cultivo, usar jeringas de aguja fija o puntas **Luer-Lok**.

Instrucciones de almacenamiento

Los frascos **BACTEC** se suministran listos para usar y no requieren reconstitución ni dilución. Almacenar en un lugar fresco y seco (2° – 25 °C) **protegido de la luz directa**.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La muestra debe recogerse empleando técnicas estériles con objeto de reducir la posibilidad de contaminación. El volumen de muestra recomendado es de 8 – 10 mL. Se recomienda inocular la muestra en los frascos **BACTEC** junto a la cama del paciente. Para la extracción de la muestra frecuentemente se utiliza una jeringa de 10 o 20 cc con punta **Luer-Lok**, un soporte de aguja **Vacutainer** y un equipo de recogida de sangre **Vacutainer** o **Vacutainer Safety-Lok** u otros tubos de tipo mariposa. Si se utiliza un conjunto de aguja y tubo (procedimiento de extracción directa), observe atentamente la dirección del flujo de la sangre cuando comience la extracción. El vacío en el vial será normalmente superior a 10 mL, de forma que el usuario debe de controlar el volumen recogido por medio de las marcas graduadas de 5 mL que aparecen en la etiqueta del vial. Se pueden utilizar volúmenes de muestra de tan solo 3 mL, aunque la recuperación no será tan buena como con volúmenes mayores. **El frasco de BACTEC inoculado debe llevarse al laboratorio tan pronto como sea posible**.

PROCEDIMIENTO

Retirar el tapón a presión e inspeccionar el frasco **BACTEC** para detectar roturas, contaminación, turbidez excesiva, hinchazón o hundimiento de la membrana. **NO UTILIZAR** si se observa algún defecto. Antes de la inoculación, limpiar la membrana con alcohol (**NO** se recomienda utilizar yodo). Inyectar asépticamente o extraer directamente hasta 8 – 10 mL de la muestra por cada frasco. Si se utilizan volúmenes de muestra de 3 – 7 mL, la recuperación no será tan buena como con volúmenes mayores (véase Limitaciones del procedimiento). **Los frascos aerobios y anaerobios inoculados deben colocarse en el instrumento BACTEC de la serie fluorescente lo antes posible**, para la incubación y monitorización. Si se retrasa la colocación de un frasco inoculado en el instrumento y se observa crecimiento visible, no debería de analizarse en el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente, sino que más bien debería de realizarse un subcultivo con tinción Gram y considerarse un frasco presuntamente positivo.

Los frascos introducidos en el instrumento se analizarán automáticamente cada diez minutos durante la duración del período del protocolo de análisis. Los frascos positivos se determinarán por el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente y se identifican como tales (consulte el Manual del usuario del instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente apropiado). El sensor en el interior del frasco no tendrá un aspecto visiblemente diferente en los frascos positivos y negativos, no obstante el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente puede determinar una diferencia en la fluorescencia.

Si al final del período de análisis un frasco negativo aparece visiblemente positivo (es decir, sangre chocolatizada, membrana hinchada, sangre lisada o muy oscurecida en un medio de cultivo **BACTEC** Plus Aerobic) debería de realizarse un subcultivo y tinción Gram y tratarse como presuntamente positivo.

Los frascos positivos deberían de subcultivarse y teñirse mediante Gram. En la gran mayoría de los casos, se observarán microorganismos y se puede realizar un informe preliminar para el médico. Pueden realizarse subcultivos en medios sólidos y una prueba de sensibilidad antimicrobiana directa preliminar a partir del líquido de los frascos **BACTEC**.

Subcultivos: Antes de realizar el subcultivo, ponga el frasco en posición vertical y coloque un trozo de algodón empapado en alcohol sobre la membrana. Para eliminar la presión en el frasco, utilice una unidad de ventilación adecuada (catálogo BD nº 249560) o equivalente. La aguja debe retirarse después de haber descendido la presión y antes de tomar una muestra del frasco para efectuar un subcultivo. La inserción y retirada de la aguja deben realizarse moviendo la mano en línea recta, evitando movimientos giratorios.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

NO UTILIZAR los frascos después de la fecha de caducidad.

NO UTILIZAR los frascos que muestran indicios de agrietamientos o defectos; desechar el frasco de la forma apropiada.

Los certificados de control de calidad se incluyen con cada caja de medios. En los certificados de control de calidad aparecen los organismos de prueba, incluidos los cultivos ATCC especificados en los estándares del CLSI, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. El intervalo de tiempo para la detección en horas era de ≤ 72 para cada uno de los microorganismos enumerados en el Certificado de control de calidad para este medio de cultivo:

Microorganismos de medio aerobio

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Microorganismos de medio anaerobio

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Cepa recomendada por el CLSI*

Para obtener información sobre el control de calidad del instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente, consulte el Manual del usuario de dicho instrumento.

RESULTADOS

Una muestra positiva es determinada por el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente e indica la presunta presencia de microorganismos viables en el vial.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Contaminación

Se debe procurar evitar la contaminación de la muestra durante la recogida y la inoculación en el frasco **BACTEC.** Una muestra contaminada dará una lectura positiva sin significado clínico. El usuario debe hacer esta determinación en base a factores tales como el tipo de organismo aislado, la presencia del mismo organismo en varios cultivos, la historia clínica del paciente, etc.

Aislamiento de organismos sensibles a PSS a partir de muestras sanguíneas

Dado que la sangre puede neutralizar la toxicidad de PSS hacia organismos sensibles al mismo, la presencia del máximo volumen posible de sangre (8 a 10 mL) puede contribuir a optimizar el aislamiento de dichos organismos. Con el fin de mejorar el crecimiento de organismos sensibles al PSS en los casos en que se inocula menos de 8 mL, se puede añadir más sangre humana entera o sangre desfibrinada de cordero.

Con ciertos microorganismos de crecimiento difícil (por ejemplo, algunas especies de *Haemophilus*), se necesitan factores de crecimiento que se encuentran en la muestra sanguínea tales como nicotinamida adenina dinucleotido o el factor V. Si el volumen de la muestra es muy reducido (3,0 mL o menos), es posible que se necesite un suplemento apropiado para facilitar el aislamiento de estos microorganismos. El enriquecimiento **FOS BACTEC** para los microorganismos de crecimiento difícil, la sangre humana entera o la sangre desfibrinada de cordero pueden usarse como suplementos nutritivos.

Organismos no viables

Un frotis teñido con una solución colorante de Gram, preparado a partir de un medio de cultivo, puede contener un número reducido de microorganismos no viables derivados de los componentes del medio, de los reactivos de la solución colorante, del aceite de inmersión, de los portaobjetos de cristal y de las muestras utilizadas para la inoculación. Además, la muestra del paciente puede contener microorganismos que no se desarrollen en el medio de cultivo o en los medios utilizados para los subcultivos. En este caso conviene efectuar un subcultivo de las muestras en medios especiales adecuados.

Actividad antimicrobiana

La neutralización de la actividad antimicrobiana con resinas varía en función de la dosis y el momento en que se realiza la extracción de la muestra. Si procede, se considerará el empleo de aditivos complementarios, como por ejemplo la incorporación de penicilinasa si se trata de terapia con β-lactámicos.

Para información sobre agentes antibióticos neutralizados por resinas **BACTEC,** pongase en contacto con el Departamento de Microbiología al número de teléfono que se indica a continuación.

Aislamiento de *Streptococcus pneumoniae*

En medios aerobios, normalmente se podrá detectar la presencia de *Streptococcus pneumoniae* a simple vista así como mediante el instrumento. Sin embargo, en algunos casos no se podrá detectar el organismo mediante el método de Gram ni tampoco aislarlo por un subcultivo de rutina. Si también se inocula un frasco anaerobio, generalmente se puede aislar el organismo realizando un subcultivo aerobio del frasco anaerobio, ya que se ha determinado que este organismo crece bien en condiciones anaerobias.[11]

Consideraciones generales

El aislamiento óptimo se obtiene cuando se añaden los mayores volúmenes posibles de sangre. El uso de volúmenes menores puede perjudicar el aislamiento y/o el tiempo necesario para la detección de organismos como *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus*. La sangre puede contener sustancias anti-microbianas u otros inhibidores que pueden retrasar o impedir el crecimiento de microorganismos. Se pueden obtener resultados falsamente negativos cuando se encuentran presentes ciertos organismos cuya producción de CO_2 no es suficiente para que el sistema lo detecte o si hubo crecimiento apreciable antes de haberse colocado el frasco en el sistema. Los resultados falsamente positivos pueden resultar cuando hay un recuento elevado de leucocitos.

Debido a la naturaleza de los materiales biológicos en productos de medio y variabilidad inherente de organismos, el usario debe estar consciente de los posibles resultados variables en la recuperación de ciertos microorganismos.

VALORES PREVISTOS Y CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECIFICAS

El rendimiento de los medios de cultivo **BD BACTEC** Plus Aerobic/F y Plus Anaerobic/F ha sido establecido por varios estudios clínicos externos.[1-3,8,9] Los estudios laboratoriales de siembra realizados por BD han mostrado un rendimiento equivalente de los medios de cultivo **BD BACTEC** Plus Aerobic/F y Plus Anaerobic/F en comparación con los medios no radiométricos **BACTEC** Plus 26 y Plus 27.[10]

Disponibilidad

Nº de cat.	Descripción
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

REFERENCIAS: Ver “References” en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials og BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (dyrkningsglas)

Soja-kasein afkogsbouillon

Dansk

TILSIGTET BRUG

BD BACTEC Plus Aerobic/F- og Plus Anaerobic/F-medierne anvendes i en kvalitativ procedure til aerob og anaerob dyrkning og påvisning af mikroorganismer (bakterier og gær) fra blod. Den primære brug af disse medier er på **BD BACTEC**-instrumenter i fluorescensserien.

RESUMÉ OG FORKLARING

Den prøve, der skal undersøges, inokuleres i et eller flere dyrkningsglas, der indsættes i **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien, til inkubation og periodisk aflæsning. Hvert dyrkningsglas indeholder en kemisk sensor, der kan detektere den øgning i CO_2, der skyldes vækst af mikroorganismer. Hvert 10. minut måler instrumentet stigningen i sensorens fluorescens, der er proportional med mængden af CO_2. En positiv aflæsning angiver den formodede tilstedeværelse af levedygtige mikroorganismer i dyrkningsglasset. Detektionen er begrænset til de mikroorganismer, der kan vokse i et bestemt medium.

Harpikser bruges til behandling af blodprøver - både før og efter inokulering i dyrkningsmediet. Der er harpikser i **BACTEC**-dyrkningsmedier for at forøge påvisningen af organismer, uden at der behøves specialbehandling.[1-3]

PROCEDURENS PRINCIPPER

Hvis der er mikroorganismer i den prøve, der er inokuleret i **BACTEC**-glasset, vil der dannes CO_2, når organismerne omsætter de substrater, der er i dyrkningsglasset. En forøgelse af sensorens fluorescens, der er forårsaget af større CO_2-mængder, måles af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien. Ved at analysere hastigheden og mængden af CO_2-forøgelsen kan **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien bestemme, om dyrkningsglasset er positivt, dvs. om prøven indeholder levedygtige organismer.

REAGENSER

BACTEC-dyrkningsglassene indeholder følgende reaktive ingredienser inden behandling:

Ingrediensoversigt	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Behandlet vand	30 mL*	25 mL
	vægt/vol	vægt/vol
Soja-kasein bouillon	3,0%	3,0%
Gærekstrakt	0,25%	0,4%
Afkog af dyrevæv	———	0,05%
Aminosyrer	0,05%	0,25%
Sukker	———	0,25%
Natriumcitrat	———	0,02%
Natriumpolyanetholsulfonat (SPS)	0,05%	0,05%
Vitaminer	0,025%	0,0006%
Antioxidanter/reduktionsmidler	0,005%	0,16%
Ikke-ionisk adsorberende harpiks	16,0%	16,0%
Kationbytterharpiks	1,0%	1,0%

Alle **BACTEC**-medier leveres med tilsat CO_2. Anaerobe medier er præreducerede og tilsat CO_2 og N_2.

*Dyrkningsmediet i **BACTEC** Plus Aerobic/F-dyrkningsglasset er blevet øget fra 25 mL til 30 mL.

Advarsler og forholdsregler:

De klargjorte dyrkningsglas er til *in vitro*-diagnostik.

Dette produkt indeholder tørt naturgummi.

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske præparater. "Standard forholdsregler"[4-7] og institutionelle retningslinjer skal følges ved håndteringen af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker.

Inden anvendelse bør hvert glas undersøges for tegn på kontaminering, såsom uklarheder, udbulende eller indsunket membran og lækage. Hvis et dyrkningsglas viser tegn på kontaminering, MÅ DET IKKE BRUGES. Der kan være overtryk i et kontamineret glas. Hvis et kontamineret glas bruges til direkte prøvetagning, er der risiko for, at gas eller kontamineret dyrkningsmedium føres ind i patientens vene. Kontaminering af glasset er ikke nødvendigvis umiddelbart synlig. Hvis der foretages direkte prøvetagning, skal man holde nøje øje med processen for at undgå, at der overføres materialer til patienten.

Inden brug skal brugeren kontrollere glassene for tegn på beskadigelse eller forringelse. Glas, der udviser uklarhed, kontaminering eller misfarvning (mørkfarvning), må ikke bruges. I sjældne tilfælde kan glasflaskens hals være revnet, og halsen kan gå i stykker, når hætten fjernes eller under håndtering. I sjældne tilfælde kan et glas ligeledes være utilstrækkeligt forseglet. I begge tilfælde kan glassets indhold løbe ud - især hvis glasset vendes om. Hvis dyrkningsglasset er blevet inokuleret, skal det spildte materiale behandles med varsomhed, da det kan indeholde patogene organismer/stoffer. Sterilisér alle inokulerede dyrkningsglas vha. autoklavering, inden de kasseres.

Positive dyrkningsglas til videredyrkning eller farvning osv.: Inden prøveudtagning er det nødvendigt at frigøre de luftarter, der ofte dannes ved mikroorganismernes stofskifte. Prøveudtagning skal om muligt foretages i et biologisk sikkerhedsskab, og man skal bruge passende beskyttelsestøj, inkl. handsker og maske. Se afsnittet Procedure for at få yderligere oplysninger om videredyrkning.

For at minimere risikoen for udslip under inokuleringen af prøven i dyrkningsglasset skal der bruges sprøjter med fastmonterede kanyler eller **Luer-Lok**-spidser.

Opbevaringsinstruktioner

BACTEC-glassene er klar til brug, som de er, og kræver hverken rekonstituering eller fortynding. Opbevares tørt og køligt (2 – 25 °C) og **ikke i direkte lys**.

PRØVEINDSAMLING

Prøverne skal indsamles vha. sterile teknikker for at reducere risikoen for kontaminering. Den anbefalede prøvestørrelse er 8 – 10 mL. Det anbefales, at prøven inokuleres i **BACTEC**-glassene ved sengekanten. Der kan bruges en 10 mL eller 20 mL sprøjte med **Luer-Lok**-spids til udtagning af prøven, en **Vacutainer**-kanylenåleholder og -blodopsamlingssæt, et **Vacutainer Safety-Lok**-blodopsamlingssæt eller en anden type slangesæt med vinger. Hvis der bruges en kanyle og et slangesæt (direkte prøvetagning), skal der omhyggeligt ses efter, i hvilken retning blodstrømmen går, når prøvetagningen påbegyndes. Undertrykket i dyrkningsglasset vil almindeligvis være over 10 mL, så brugeren skal holde øje med den indsamlede mængde vha. 5 mL-stregen på dyrkningsglassets etikette. Der kan benyttes prøvemængder helt ned til 3 mL, men påvisningen bliver ikke så stor som for større mængder. **Det inokulerede BACTEC-glas skal transporteres til laboratoriet så hurtigt som muligt.**

PROCEDURE

Fjern hætten på **BACTEC**-glasset, og kontrollér dyrkningsglasset for revner, kontaminering, uklarheder og udbulende eller indsunken membran. **MÅ IKKE ANVENDES**, hvis der observeres nogen defekter. Inden inokulering skal membranen renses med alkohol (jod anbefales **IKKE**). Injicér eller udtag direkte med steril teknik 8 – 10 mL prøve pr. dyrkningsglas. Hvis der bruges prøvemængder på 3 – 7 mL, bliver påvisningen ikke så stor som ved større mængder (se Procedurens begrænsninger). **Inokulerede aerobe og anaerobe dyrkningsglas skal placeres i BACTEC-instrumentet i fluorescensserien så hurtigt som muligt** til inkubation og måling. Hvis det inokulerede dyrkningsglas er blevet placeret i instrumentet med forsinkelse, og der kan ses tydelig vækst, skal det ikke undersøges i **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien, men videredyrkes, gram-farves og behandles som en formodet positiv flaske.

Dyrkningsglas, der er sat i instrumentet, testes automatisk hvert tiende minut, så længe testen varer. Positive dyrkningsglas identificeres af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien (se brugsanvisningen til det relevante **BACTEC**-instrument i fluorescensserien). Sensoren i flasken ser ikke anderledes ud i positive i forhold til negative dyrkningsglas, men **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien kan detektere en forskel i fluorescensen.

Hvis et negativt dyrkningsglas ser positivt ud ved undersøgelsens afslutning (dvs. har chokoladelignende blod, udbulende membran, lyseret og/eller meget mørknet blod i **BACTEC** Plus Aerobic-medium), skal det videredyrkes, gram-farves og behandles som en formodet positiv prøve.

Positive glas skal videredyrkes og gram-farves. I størstedelen af tilfældene vil organismerne være synlige, og en foreløbig rapport kan afleveres til lægen. Videredyrkning i faste medier og en foreløbig, direkte antimikrobiel følsomhedstest kan laves med væsken i **BACTEC**-glassene.

Videredyrkning: Inden videredyrkning skal glasset placeres lodret, og en serviet med alkohol skal placeres over membranen. Trykket i glasset udlignes med en hensigtsmæssig udluftningsanordning (BD katalognr. 249560) eller tilsvarende. Kanylen skal fjernes, når trykket er udlignet, og inden der udtages prøver fra glasset til videredyrkning. Indsætningen og fjernelsen af kanylen skal foretages med en lige bevægelse uden drejende bevægelser.

KVALITETSKONTROL

Krav til kvalitetskontrol skal overholdes i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardprocedurer til kvalitetskontrol. Det anbefales at læse de relevante CLSI-retningslinjer og CLIA-regulativer mht. relevante procedurer til kvalitetskontrol.

BRUG IKKE dyrkningsglassene efter udløbsdatoen.

BRUG IKKE dyrkningsglas med revner eller fejl. Bortskaf dyrkningsglasset på korrekt måde.

Kvalitetskontrolcertifikater er vedlagt hver pakke med medier. Kvalitetskontrolcertifikaterne har en liste over testorganismerne, inkl. ATCC-stammer som specificeret i CLSI-standarden M22, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. Detektionstiden i timer for de anførte organismer var ≤ 72 timer for hver af de organismer, der er nævnt på kvalitetskontrolcertifikatet for dette medium:

Aerobt medium: organismer

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Anaerobt medium: organismer

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

* *CLSI-anbefalet stamme*

Se brugsanvisningen til det relevante **BACTEC**-instrument i fluorescensserien for at få yderligere oplysninger om kvalitetskontrol af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien.

RESULTATER

BACTEC-instrumentet i fluorescensserien identificerer en positiv prøve, hvilket angiver den formodede tilstedeværelse af levedygtige mikroorganismer i dyrkningsglasset.

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Kontaminering

Man skal være omhyggelig med at forhindre, at prøven kontamineres under prøvetagningen og inokuleringen i **BACTEC**-glasset. En kontamineret prøve vil give en positiv aflæsning, men vil ikke angive en klinisk relevant prøve. En sådan identifikation skal foretages af brugeren på grundlag af faktorer såsom typen af den isolerede organisme, tilstedeværelsen af den samme organisme i flere kulturer, sygdomsforløbet etc.

Opsamling af SPS-sensitive organismer fra blodprøver

Da blod kan neutralisere SPS's toksicitet over for SPS-sensitive organismer, kan brugen af maksimale blodvolumener (8 – 10 mL) være med til at optimere opsamlingen af sådanne organismer. For at øge væksten af SPS-sensitive organismer, i de tilfælde hvor mindre end det optimale volumen blod er inokuleret, kan man tilsætte humant fuldblod.

Visse kræsne organismer såsom visse *Haemophilus*-arter kræver vækstfaktorer såsom NAD eller faktor V, der findes i blodprøven. Hvis blodprøven er 3 mL eller derunder, kan det være nødvendigt med et ekstra supplement for at isolere disse organismer. Man kan bruge **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement, humant fuldblod eller defibrineret fåreblod som næringssupplement.

Ikke-levedygtige organismer

Et Gram-farvet opstrøg af kulturmedium kan indeholde små mængder af ikke-levedygtige organismer, der kommer fra mediet, farvningsreagenser, immersionsolie, objektglas og prøver til inokulering. Derudover kan patientprøven indeholde organismer, der ikke kan vokse i dyrkningsmediet eller i det medium, der bruges til videredyrkning. Sådanne prøver bør videredyrkes i passende specialmedier.

Antimikrobiel aktivitet

Harpiksernes neutralisering af den antimikrobielle aktivitet afhænger af dosisniveauet og timingen af prøveindsamlingen. Brugen af supplementer skal vurderes i den enkelte situation som f.eks. brugen af penicillinase under β-lactamterapi.

Kontakt BDs tekniske serviceafdeling på nedenstående gratisnummer for at få yderligere oplysninger om antimikrobielle stoffer, der neutraliseres af harpikser.

Opsamling af *Streptococcus pneumoniae*

I aerobe medier vil *S. pneumoniae* typisk være positiv set både med instrumentets og egne øjne, men i visse tilfælde vil man ikke kunne se organismer ved Gram-farvning eller isolere dem ved rutinemæssig videredyrkning. Hvis der også blev inokuleret et anaerobt dyrkningsglas, kan organismen sædvanligvis isoleres ved at foretage en aerob videredyrkning af det anaerobe dyrkningsglas, da det er påvist, at denne organisme gror godt under anaerobe betingelser.[11]

Generelle betragtninger

Man får den bedste opsamling af isolaterne, hvis man tilsætter den maksimale mængde blod. Brug af mindre mængder kan have en negativ effekt på opsamlingen af og/eller detektionstiden for organismer såsom Peptostreptococcus, Peptococcus og Bacteroides asaccharolyticus. Blod kan indeholde antimikrobielle stoffer eller andre inhibitorer, der kan forsinke eller forhindre væksten af mikroorganismer. Man kan få falske negative aflæsninger, når der er visse organismer til stede, som ikke producerer CO_2 nok til at blive detekteret af systemet, eller hvis der er sket en signifikant vækst, inden dyrkningsglasset er blevet placeret i systemet. Man kan få falske positiver, hvis antallet af hvide blodlegemer er højt.

Pga. de biologiske materialer i medierne og den iboende varians blandt mikroorganismer skal brugeren være opmærksom på den potentielle varians i resultaterne af opsamlingen af visse mikroorganismer.

FORVENTEDE VÆRDIER OG SPECIFIKKE YDELSESKARAKTERISTIKA

Ydelsen af **BD BACTEC** Plus Aerobic/F- og Plus Anaerobic/F-medier er tidligere undersøgt vha. flere eksterne kliniske undersøgelser.[1-3,8,9] Udsåede laboratorieundersøgelser udført af BD har vist, at ydelsen af **BD BACTEC** Plus Aerobic/F- og Plus Anaerobic/F-medier svarer til ikke-radiometrisk **BACTEC** Plus 26 og Plus 27.[10]

BESTILLING

Kat.- nr.	Beskrivelse
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

LITTERATUR: Se afsnittet “References” i den engelske tekst.

BD Diagnostics Teknisk service og support: skal De kontakte den lokale BD repræsentant.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials e BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Frascos de Cultura)

Meio Líquido de Soja-Caseína Digerida

Portugués

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Os meios **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F (Aeróbio Plus/F e Anaeróbio Plus/F) são utilizados num procedimento qualitativo para a cultura aeróbia e anaeróbia e isolamento de microrganismos (bactérias e leveduras) do sangue. A utilização principal destes meios é aplicável a instrumentos da série fluorescente **BD BACTEC**.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A amostra a ser testada é inoculada dentro de um ou mais frascos, os quais são introduzidos dentro do instrumento da série fluorescente **BACTEC**, para incubação e leituras periódicas. Cada frasco contém um sensor químico que consegue detectar aumentos no CO_2 produzido pelo crescimento dos microrganismos. O sensor é monitorizado pelo instrumento a cada dez minutos relativamente ao aumento da respectiva fluorescência, proporcional à quantidade de CO_2 presente. Uma leitura positiva indica a presença presumida de microrganismos viáveis no frasco. A detecção está limitada aos microrganismos que crescerão num tipo de meio específico.

As resinas foram descritas para o tratamento de amostras de sangue antes e após da respectiva inoculação nos meios de cultura. As resinas foram incorporadas nos meios de cultura **BACTEC** para potenciar o isolamento de organismos sem exigir de um processamento especial.[1-3]

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Se existirem microrganismos na amostra de teste inoculada dentro do frasco **BACTEC**, ocorrerá a produção de CO_2 quando os organismos metabolizarem os substratos presentes no frasco. Os aumentos na fluorescência do sensor do frasco provocados pelo aumento na quantidade de CO_2 são monitorizados pelo instrumento da série fluorescente **BACTEC**. A análise da velocidade e da quantificação do aumento do CO_2 permite ao instrumento da série fluorescente da marca **BACTEC** determinar se a leitura do frasco é positiva, ou seja, se a amostra testada contém organismos viáveis.

REAGENTES

Antes do processamento, os frascos de cultura **BACTEC** contêm os seguintes ingredientes reactivos:

Lista de ingredientes	**BACTEC Plus Aerobic/F**	**BACTEC Plus Anaerobic/F**
Água processada	30 mL*	25 mL
	p/v	p/v
Meio líquido de soja-caseína digerida	3,0%	3,.0%
Extracto de levedura	0,25%	0,4%
Tecido animal digerido	———	0,05%
Aminoácidos	0,05%	0,25%
Açúcar	———	0,25%
Citrato de sódio	———	0,02%
Polianetolsulfonato de sódio (SPS)	0,05%	0,05%
Vitaminas	0,025%	0,0006%
Antioxidantes/Redutores	0,005%	0,16%
Resina Adsorvente Não iónica	16,0%	16,0%
Resina de Permuta Catiónica	1,0%	1,0%

Todos os meios **BACTEC** são distribuídos com CO_2 adicionado. Os meios anaeróbios são previamente reduzidos e distribuídos com CO_2 e N_2.

*O volume do meio no frasco **BACTEC** Plus Aerobic/F foi aumentado de 25 mL a 30 mL.

Advertências e Precauções:

Os frascos de cultura preparados destinam-se a ser utilizados no diagnóstico *in vitro*.

Este produto contém borracha natural seca.

Podem existir microrganismos patogénicos nas amostras clínicas, incluindo os vírus da hepatite e o vírus da imunodeficiência humana. Na manipulação de todos os itens contaminados com sangue e outros líquidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"[4-7] e as directrizes da instituição.

Antes de ser utilizado, cada frasco deve ser examinado relativamente a sinais de contaminação, tais como turvação, abaulamento ou depressão do septo, ou fugas. NÃO UTILIZE nenhum frasco que apresente sinais de contaminação. Um frasco contaminado pode conter uma pressão positiva. Se for utilizado um frasco contaminado para colheita directa, poderá ocorrer um refluxo de gás ou do meio de cultura contaminado para a veia do doente. A contaminação do frasco pode não ser imediatamente aparente. Se for utilizado um procedimento de colheita directa, monitorize cuidadosamente o processo de forma a evitar o refluxo de materiais para o doente.

Antes de ser utilizado, o utilizador deve examinar cada frasco relativamente a danos ou deterioração. Os frascos que apresentem turvação, contaminação ou descoloração (escurecimento) não devem ser utilizados. Em raras ocasiões, o gargalo do frasco de vidro poderá estar rachado e partir-se durante a remoção da tampa de encaixe, ou durante a manipulação. Igualmente, em ocasiões raras, um frasco poderá não estar suficientemente selado. Em ambos os casos, poderá ocorrer uma fuga ou o derrame do conteúdo do frasco, especialmente se o frasco for invertido. Se o frasco tiver sido inoculado, trate a fuga ou o derrame com cuidado pois podem existir organismos/agentes patogénicos. Antes da eliminação, esterilize todos os frascos inoculados em autoclave.

Frascos de cultura positivos para repicagem ou coloração, etc.: antes da colheita de amostras, é necessário libertar o gás frequentemente produzido devido ao metabolismo microbiano. Se possível, a colheita de amostras deverá ser efectuada numa câmara de segurança biológica e utilizando vestuário protector, incluindo luvas e máscaras. Consulte a secção Procedimento para obter mais informações sobre a repicagem.

Para minimizar a possibilidade de fugas durante a inoculação da amostra dentro dos frascos de cultura, utilize seringas com agulhas fixas ou pontas **Luer-Lok**.

Instruções de Armazenamento

Os frascos **BACTEC** encontram-se prontos a serem utilizados tal como são recebidos e não necessitam de reconstituição ou diluição. Armazene num local fresco e seco (2° – 25 °C), **sem luz directa**.

COLHEITA DE AMOSTRAS

A colheita de amostras deve ser efectuada utilizando técnicas estéreis, de forma a diminuir a possibilidade de contaminação. O volume de amostra recomendado é de 8 – 10 mL. Recomenda-se que a inoculação da amostra nos frascos **BACTEC** seja efectuada na cabeceira do doente. É utilizada uma seringa de 10cc ou 20cc com uma ponta de marca **Luer-Lok** para colheita de amostra, em alternativa, pode ser utilizada um Suporte de Agulha **Vacutainer** e um Conjunto de Colheita de Sangue **Vacutainer**, um Conjunto de Colheita de Sangue **Vacutainer Safety-Lok** ou outro conjunto de tubagem tipo "borboleta". Se utilizar uma agulha e um conjunto com tubagem (colheita directa), observe cuidadosamente a direcção do fluxo do sangue quando iniciar a colheita da amostra. O vácuo no frasco excederá habitualmente os 10 mL, devendo por isso o utilizador monitorizar o volume colhido através das marcas da graduação de 5 mL existentes no rótulo do frasco. Podem ser utilizadas amostras com um volume mínimo de 3 mL, no entanto, o isolamento será menor do que aquele conseguido com volumes superiores. **O frasco BACTEC inoculado deverá ser transportado para o laboratório o mais rapidamente possível.**

PROCEDIMENTO

Retire a tampa de encaixe do topo do frasco **BACTEC** e inspeccione-o relativamente à existência de fendas, contaminação, turvação excessiva e abaulamento ou irregularidades do septo. Se for detectado algum defeito, **NÃO UTILIZAR**. Antes de inocular, limpe o septo com álcool (o iodo **NÃO** é recomendado). Efectue a injecção asséptica ou a colheita directa de 8 – 10 mL de amostra por frasco. Se forem utilizados volumes de amostras de 3 – 7 mL, o isolamento será menor do que aquele conseguido com volumes superiores (consulte Limitações do Procedimento). **Os frascos aeróbios e anaeróbios inoculados devem ser colocados o mais rapidamente possível no instrumento da série fluorescente BACTEC** para a incubação e monitorização. Se ocorrer algum atraso na colocação do frasco inoculado dentro do instrumento e existir crescimento visível, o frasco não deverá ser testado no instrumento da série fluorescente **BACTEC**; em vez disso, deverá ser efectuada uma repicagem e a coloração Gram, devendo o frasco ser manipulado como um frasco presumidamente positivo.

Os frascos introduzidos dentro do instrumento serão automaticamente testados a cada dez minutos durante o período de duração do protocolo do teste. O instrumento da série fluorescente **BACTEC** determinará e identificará os frascos positivos (consulte o Manual do Utilizador do Instrumento da Série Fluorescente **BACTEC** apropriado). O sensor no interior do frasco não apresentará diferenças visíveis entre os frascos positivos e os negativos; no entanto, o instrumento da série fluorescente **BACTEC** consegue detectar diferenças de fluorescência.

Se, no fim do período de teste, um frasco negativo apresentar sinais visíveis de positividade (isto é, sangue com cor de chocolate, abaulamento do septo, sangue lisado e/ou sangue com cor muito escura no meio **BACTEC** Plus Aerobic), deverá ser efectuada uma repicagem e coloração Gram, devendo o frasco ser manipulado como um frasco presumidamente positivo.

Deverá ser efectuada uma repicagem e coloração Gram dos frascos de cultura positivos. Na grande maioria dos casos, os organismos serão observados e poderá ser efectuado um relatório preliminar para o médico. A partir do líquido nos frascos **BACTEC**, podem ser preparadas repicagens em meios sólidos, bem como um teste de susceptibilidade antimicrobiana directa preliminar.

Repicagem: Antes de efectuar a repicagem, coloque o frasco na posição vertical e coloque uma compressa com álcool sobre o septo. Para soltar a pressão no frasco, utilize uma unidade de ventilação apropriada (nº. de catálogo BD 249560) ou equivalente. A agulha deverá ser retirada após a libertação da pressão e antes da recolha da amostra do frasco para repicagem. A introdução e a remoção da agulha devem ser efectuadas com um movimento em linha recta, evitando quaisquer movimentos de torção.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os requisitos de controlo da qualidade têm de ser realizados de acordo com os regulamentos ou as exigências de acreditação aplicáveis locais, estatais e/ou federais [EUA] e os procedimentos de Controlo da Qualidade em vigor no laboratório. Recomenda-se ao utilizador que consulte as normas CLSI e os regulamentos CLIA relevantes sobre as práticas correctas de Controlo da Qualidade.

NÃO UTILIZE os frascos de cultura que tenham ultrapassado o prazo de validade.

NÃO UTILIZE frascos de cultura que apresentem fendas ou defeitos; elimine o frasco de forma apropriada.

Em cada caixa de meios de cultura, são fornecidos Certificados do Controlo de Qualidade. Os Certificados do Controlo de Qualidade contêm uma lista dos organismos para teste, incluindo as culturas ATCC especificadas na Norma CLSI M22, *Controlo de Qualidade para os Meios de Cultura Preparados Comercialmente*. O intervalo de tempo em horas até à detecção foi ≤ 72 h, para cada um dos organismos referidos no Certificado do Controlo de Qualidade para este meio:

Organismos de meio aeróbio

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Organismos de meio anaeróbio

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Estirpe com recomendação CLSI*

Para obter informações sobre o Controlo de Qualidade para o instrumento da série fluorescente **BACTEC**, consulte o Manual do Utilizador do Instrumento da Série Fluorescente **BACTEC** apropriado.

RESULTADOS

Uma amostra positiva é determinada pelo instrumento da série fluorescente **BACTEC** e indica a presença presumida de microrganismos viáveis no frasco.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Contaminação

Deverá ter cuidado para evitar a contaminação da amostra durante a colheita e a inoculação dentro do frasco **BACTEC**. Uma amostra contaminada apresentará uma leitura positiva, mas não indicará uma amostra clinicamente relevante. Tal determinação deverá ser efectuada pelo utilizador com base em factores tais como o tipo de organismos isolados, a ocorrência do mesmo organismo em culturas múltiplas, a história do doente, etc.

Isolamento de Organismos Sensíveis ao SPS a partir de Amostras de Sangue

Uma vez que o sangue pode neutralizar a toxicidade do SPS para os organismos sensíveis ao SPS, a presença de volumes máximos de sangue (8 – 10 mL) constitui uma vantagem para o isolamento destes organismos. Para aumentar o crescimento de organismos sensíveis ao SPS quando são inoculados volumes inferiores de sangue, poderá ser adicionado sangue total humano.

Alguns organismos de crescimento lento, tais como certas espécies de *Haemophilus*, necessitam de factores de crescimento, tais como o NAD ou factor V, os quais são fornecidos pela amostra de sangue. Se o volume da amostra de sangue for de 3,0 mL ou inferior, poderá ser necessário um suplemento adequado para o isolamento destes organismos. O Suplemento para Organismos de Crescimento Lento **FOS BACTEC**, o sangue total humano ou o sangue de ovelha desfibrinado, podem ser utilizados como suplementos nutritivos.

Organismos Não Viáveis

Um esfregaço com a coloração Gram, obtido a partir de um meio de cultura, pode conter números reduzidos de organismos não viáveis derivados dos constituintes dos meios, dos reagentes da coloração, do óleo de imersão, das lâminas de vidro e das amostras utilizadas para a inoculação. Além disso, a amostra do doente pode conter organismos que não crescerão no meio de cultura ou no meio utilizado para a repicagem. Se for apropriado, pode ser efectuada uma repicagem dessas amostras num meio especial.

Actividade Antimicrobiana

A neutralização da actividade antimicrobiana pelas resinas varia dependendo do nível de dosagem e do momento da colheita da amostra. A utilização de aditivos suplementares deve ser considerada em situações apropriadas; como exemplo, a adição de penicilinase quando está a ser u tilizada uma terapêutica com β-lactamases.

Para mais informações sobre os aentes antimicrobianos neutraloizados pelas resinas **BACTEC**, contacte o departamento de Serviços Técnicos BD, no número gratuito apresentado em baixo.

Isolamento de *Streptococcus pneumoniae*

Tipicamente, em meios aeróbios o *S. pneumoniae* será positivo, quer visualmente, quer no instrumento, mas em alguns casos não será observado nenhum organismo na coloração Gram nem será isolado na repicagem de rotina. Se também tiver sido inoculado um frasco anaeróbio, o organismo pode geralmente ser isolado efectuando uma repicagem em meio aeróbio do frasco anaeróbio, uma vez que tem sido referido que este organismo apresenta um bom crescimento sob condições anaeróbias.[11]

Considerações Gerais

A detecção óptima de isolados será obtida adicionando as quantidades máximas de sangue. A utilização de volumes inferiores pode afectar de forma adversa os períodos de tempo de isolamento e/ou detecção de organismos como *Peptostreptococcus, Peptococcus, Bacteroides asaccharolyticus*. O sangue pode conter antimicrobianos ou outros inibidores, os quais podem atrasar ou impedir o crescimento de microorganismos. Poderão ocorrer leituras falsas negativas quando estiverem presentes certos organismos que não produzam CO_2 suficiente para ser detectado pelo sistema, ou se tiver ocorrido um crescimento significativo antes da colocação do frasco dentro do sistema. A falsa positividade pode ocorrer quando a contagem de glóbulos brancos é elevada.

Devido à natureza dos materiais biológicos existentes nos produtos dos meios e à variabilidade inerente ao organismo, o utilizador deverá estar informado da potencial variação de resultados no isolamento de certos microorganismos.

VALORES ESPERADOS E CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO ESPECÍFICAS

O desempenho dos meios **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F foi estabelecido numa série de estudos clínicos externos.[1-3,8,9] Estudos laboratoriais de culturas semeadas efectuados pela BD demonstraram um desempenho equivalente dos **BD BACTEC** Plus Aerobic/F e Plus Anaerobic/F com os meios não radiométricos **BACTEC** Plus 26 e Plus 27.[10]

APRESENTAÇÃO

Nº. Cat.	Descrição
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium, caixa de 50 frascos

BIBLIOGRAFIA: Consulte “References” no texto em Inglês.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
Importado e Distribuído no Brasil por:
Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
CNPJ 21.551.379/0013-31
Serviço de Suporte Tecnico (11) 5185-9961
Registro ANVISA nº 10033430101 (Aeróbia Plus/F **BACTEC**)
Registro ANVISA nº 10033430103 (Anaeróbia Plus/F **BACTEC**)
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD.

BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials och BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (odlingsflaskor)

Soja-kaseinhydrolysatbuljong

Svenska

AVSEDD ANVÄNDNING

BD BACTEC Plus Aerobic/F och Plus Anaerobic/F medier används för kvalitativ aerob och anaerob odling och påvisning av mikroorganismer (bakterier och jästsvampar) i blod. Det huvudsakliga användningsområdet för dessa media är med **BD BACTEC** instrument ur fluorescensserien.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Provet som skall testas ympas på en eller flera flaskor som sedan insätts i ett **BACTEC**-instrument ur fluorescensserien för inkubering och regelbunden avläsning. Varje flaska innehåller en kemisk sensor som kan detektera ökad CO_2-halt producerad vid växt av mikroorganismer. Var tionde minut läser instrumentet av huruvida sensorn uppvisar någon fluorescensökning, vilken i så fall är proportionell mot CO_2-halten in provet. Ett positivt utslag visar sannolik förekomst av viabla mikroorganismer i flaskan. Detektionsmöjligheten begränsas till sådana mikroorganismer som kan växa i ett specifikt medium.

Resiner har beskrivits för behandling av blodprover såväl före som efter ympning i odlingsmedier. Resiner har inkluderats i **BACTEC** odlingsmedier för förbättrad möjlighet till påvisning av organismer utan att specialbehandling behöver ske.[1-3]

PRINCIPER FÖR METODEN

Vid förekomst av mikroorganismer i det prov som ympats på **BACTEC**-flaskan produceras CO_2 när organismerna metaboliserar substraten i flaskan. **BACTEC**-instrumentet ur fluorescensserien läser av flaskans sensor för ökad fluorescens, vilken orsakas av ökad CO_2-halt. Genom analys av CO_2-ökningens hastighet och storlek kan **BACTEC**-instrumentet ur fluorescensserien fastställa om flaskan är positiv, dvs. om provet innehåller viabla organismer.

REAGENSER

BACTEC odlingsflaskor innehåller följande reaktiva beståndsdelar före användning:

Beståndsdelar	**BACTEC Plus Aerobic/F**	**BACTEC Plus Anaerobic/F**
Behandlat vatten	30 mL*	25 mL
	vikt/vol	vikt/vol
Soja-kaseinhydrolysatbuljong	3,0%	3,0%
Jästextrakt	0,25%	0,4%
Hydrolyserad animal vävnad	———	0,05%
Aminosyror	0,05%	0,25%
Socker	———	0,25%
Natriumcitrat	———	0,02%
Natriumpolyanetolsulfonat	0,05%	0,05%
Vitaminer	0,025%	0,0006%
Antioxidanter/reduktanter	0,005%	0,16%
Icke-jonisk adsorberande resin	16,0%	16,0%
Katjonbytande resin	1,0%	1,0%

Alla **BACTEC**-medier dispenseras med tillsats av CO_2. Anaeroba odlingsmedier är förreducerade och dispenseras med tillsats av CO_2 och N_2.

*Mediumvolym i **BACTEC** Plus Aerobic/F-odlingsflaska har ökat från 25 mL till 30 mL.

Varningar och försiktighetsbeaktanden:

De färdigställda odlingsflaskorna är avsedda för *in vitro*-diagnostik.

Denna produkt innehåller torrt naturgummi.

Patogena mikroorganismer, inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus, kan förekomma i kliniska prover. "Allmänna försiktighetsbeaktanden"4-7 och institutionens riktlinjer bör följas vid hantering av alla föremål som kontaminerats med blod eller andra kroppsvätskor.

Före användning skall varje flaska undersökas för tecken på kontamination såsom grumlighet, buktande eller indraget membran eller läckage. Flaskor som uppvisar tecken på kontamination FÅR EJ användas. Det kan vara övertryck i en kontaminerad flaska. Om en kontaminerad flaska används för direkt provtagning, kan gas eller kontaminerat odlingsmedium rinna tillbaka in i patientens ven. Flaskkontamination syns inte alltid tydligt. Om provet dras direkt från patienten, skall förfarandet övervakas noggrant så att man undviker reflux av material till patienten.

Före användning bör varje flaska undersökas för tecken på skador eller försämring. Grumliga, kontaminerade eller missfärgade (mörka) flaskor bör inte användas. I sällsynta fall kan sprickor ha uppstått i flaskhalsen av glas och denna kan gå sönder när locket tas av eller under hantering. Det kan också i sällsynta fall förekomma att flaskan inte är fullständigt förseglad. I båda fallen kan flaskans innehåll läcka eller spillas ut, speciellt om flaskan vänds upp och ned. Om flaskan har inokulerats skall det utläckta eller spillda materialet hanteras med försiktighet eftersom det kan innehålla patogena organismer/agens. Innan de kasseras skall alla inokulerade flaskor steriliseras i autoklav.

Positiva odlingsflaskor för fortsatt odling eller infärgning, m.m.: Före provtagning är det nödvändigt att släppa ut gas som ofta ansamlas som resultat av den mikrobiella metabolismen. Provtagning bör om möjligt utföras i biologiskt säkerhetsskåp och lämplig skyddsklädsel, inklusive handskar och munskydd, skall bäras. Se avsnittet Förfarande för ytterligare information om fortsatt odling.

För att minimera risken för läckage vid ympning av prover på odlingsflaskor, skall sprutor med permanent fastsatta nålar eller **Luer-Lok**-ansatser användas.

Förvaringsanvisningar

BACTEC-flaskorna levereras färdiga för användning och kräver ingen rekonstituering eller spädning. Förvaras torrt och svalt (2 – 25 °C), **skyddade från direkt ljus**.

PROVTAGNING

Provtagning måste ske med steril teknik för att minska risken för kontamination. Rekommenderad provvolym är 8 – 10 mL. Det rekommenderas att provet ympas på **BACTEC**-flaskorna vid sängkanten. En 10 mL eller 20 mL spruta med ansats av märket **Luer-Lok** används för att ta provet, en nålhållare av märket **Vacutainer** och ett blodprovtagningsset av antingen märket **Vacutainer** eller **Vacutainer Safety-Lok** eller annat butterflyset kan användas. Vid användning av nål- och slangset (provet dras direkt), skall blodflödets riktning noga observeras vid starten av provtagningen. Undertrycket i flaskan överstiger vanligen 10 mL, varför användaren bör övervaka volymen som dras med hjälp av 5 mL-graderingen på flaskans etikett. Det går att använda så små provvolymer som 3 mL, men möjligheten till påvisning är inte lika god som vid användning av större volymer. **Den inokulerade BACTEC-flaskan bör så snabbt som möjligt transporteras till laboratoriet.**

FÖRFARANDE

Dra av locket på **BACTEC**-flaskan och kontrollera att flaskan inte uppvisar sprickor, kontamination, uttalad grumlighet eller buktande eller indraget membran. Flaskan **FÅR EJ** användas om någon defekt noteras. Före inokulation skall membranet torkas av med alkohol (jod rekommenderas **EJ**). Injicera aseptiskt eller drag direkt 8 – 10 mL prov per flaska. Vid användning av provvolymer på 3 – 7 mL är möjligheten till påvisning inte lika god som vid användning av större volymer (se Metodens begränsningar). **Inokulerade aeroba och anaeroba flaskor bör så snart som möjligt placeras i ett BACTEC instrument ur fluorescensserien**, för inkubering och avläsning.

Om placeringen av en inokulerad flaska i **BACTEC** instrument ur fluorescensserien har fördröjts och växt är synlig, bör flaskan inte testas i detta instrument, utan istället genomgå fortsatt odling, Gram-färgas samt behandlas som presumptivt positiv.

Flaskor som sätts in i instrumentet testas automatiskt var tionde minut under hela testprotokollperioden. Positiva flaskor detekteras av **BACTEC** instrument ur fluorescensserien och identifieras såsom sådana (se relevant bruksanvisning för **BACTEC** instrument ur fluorescensserien). Sensorerna i positiva respektive negativa flaskor uppvisar inte några synliga skillnader; en skillnad i fluorescens kan dock detekteras av **BACTEC** instrument ur fluorescensserien.

Om en negativ flaska vid okulärbesiktning i slutet av testperioden förefaller positiv (dvs. chokladliknande blod, buktande membran, lyserat och/eller kraftigt mörkfärgat blod i **BACTEC** Plus Aerobic-medium), bör flaskan genomgå fortsatt odling och Gram-färgas samt behandlas som presumptivt positiv.

Positiva flaskor bör genomgå fortsatt odling och Gram-färgas. I de allra flesta fall kan organismer ses och preliminärsvar lämnas till läkaren. Fortsatt odling i fasta medier och en preliminär, direkt antibiotikaresistensbestämning kan utföras med användning av vätskan i **BACTEC**-flaskorna.

Fortsatt odling: Innan fortsatt odling utförs skall flaskan ställas upprätt och en alkoholtork läggas över membranet. Släpp ut trycket i flaskan genom att använda en lämplig ventileringsenhet (BD katalognr. 249560). Avlägsna nålen efter att trycket har avlastats och innan prov tas från flaskan för fortsatt odling. Nålen bör föras in och dras ut rakt; undvik vridrörelser.

KVALITETSKONTROLL

Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med gällande bestämmelser och/eller ackrediteringskrav samt laboratoriets standardrutiner för kvalitetskontroll. Det rekommenderas att användaren konsulterar tillämpliga CLSI- riktlinjer och CLIA-föreskrifter för lämpliga kvalitetskontrollförfaranden.

Odlingsflaskorna **FÅR EJ** användas efter utgångsdatum.

Spruckna eller defekta odlingsflaskor **FÅR EJ** användas utan skall kasseras på föreskrivet sätt.

Kvalitetskontrollbevis medföljer varje låda odlingsmedier. Kvalitetskontrollbevisen listar testorganismer, inklusive ATCC-kulturer specificerade i CLSI Standard M22 *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* (kvalitetskontroll för kommersiellt tillverkade mikrobiologiska odlingsmedier). Intervallet tid-till-detektion var ≤ 72 h för varje organism som listas i kvalitetskontrollbeviset för detta medium:

Organismer i aerobt medium

Neisseria meningitidis ATCC 13090	*Candida glabrata* ATCC 66032
Haemophilus influenzae ATCC 19418	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
*Streptococcus pneumoniae** ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	*Alcaligenes faecalis* ATCC 8750
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	

Organismer i anaerobt medium

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Escherichia coli* ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**CLSI-rekommenderad stam*

För information om kvalitetskontroll av **BACTEC**-instrument ur fluorescensserien hänvisas till respektive bruksanvisning för dessa instrument.

RESULTAT

Ett positivt prov detekteras av ett **BACTEC**-instrument ur fluorescensserien och indikerar presumptiv förekomst av viabla mikroorganismer i flaskan.

PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

Kontamination

Försiktighet skall iakttagas så att kontamination av provet under provtagning och ympning på **BACTEC**-flaskan förhindras. En kontaminerad flaska kan ge en positiv instrumentavläsning men detta innebär inte att provet är kliniskt relevant. Det kommer an på användaren att avgöra huruvida provet är kontaminerat eller ej, med ledning av sådana faktorer som typ av påvisad organism, uppträdande av samma organism i flera odlingar, patientens anamnes, etc.

Påvisning av SPS-känsliga organismer i blodprover

Eftersom blod kan neutralisera SPS-toxiciteten för organismer känsliga för SPS, kan användning av maximal blodvolym (8 – 10 mL) bidra till att optimera möjligheten till påvisning av dessa organismer. För att främja växten av SPS-känsliga organismer i de fall där mindre än optimala blodvolymer ympas kan ytterligare humant helblod tillföras.

Vissa svårodlade organismer, såsom vissa *Haemophilus*-arter, kräver tillväxtfaktorer såsom NAD eller faktor V, vilka tillhandahålles från blodprovet. Om blodprovets volym är 3,0 mL eller mindre, kan ett lämpligt supplement behövas för att dessa organismer skall kunna påvisas. **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement (supplement för svårodlade organismer), humant helblod eller defibrinerat fårblod kan användas som näringstillägg.

Icke-viabla organismer

Ett Gram-färgat utstryk från ett odlingsmedium kan innehålla små mängder icke-viabla organismer som härrör från ingredienser i mediet, färgreagenser, immersionsolja, objektglas eller ympade prover. Dessutom kan patientprovet innehålla organismer som inte växer i odlingsmediet eller i de medier som används för fortsatt odling. Sådana prover bör genomgå fortsatt odling på lämpliga specialmedier.

Antimikrobiell aktivitet

Resinernas neutralisering av antimikrobiell aktivitet varierar beroende på dosnivå och provtagningstidpunkt. När så är lämpligt bör extra tillsatser övervägas, till exempel tillsats av penicillinas vid behandling med beta-laktam-antibiotika.

BD Technical Services kan kontaktas på nedanstående tel.nr. för information om vilka antimikrobiella agens som neutraliseras av **BACTEC**-resinerna.

Påvisning av *Streptococcus pneumoniae*

I aeroba medier är *S. pneumoniae* i vanliga fall positivt, både vid okulärbesiktning och enligt instrumentet, men i vissa fall kan inga organismer ses vid Gram-färgning och inte heller påvisas vid rutinmässig fortsatt odling. Om även en anaerob flaska har inokulerats, kan organismen dock vanligen påvisas genom fortsatt aerob odling från den anaeroba flaskan, eftersom denna organism har rapporterats kunna växa väl under anaeroba förhållanden.[11]

Allmänna kommentarer

Optimal påvisning av isolat uppnås genom ympning av den maximala mängden blod. Användning av mindre volymer kan försämra möjligheten till påvisning och/eller förlänga detektionstiden för sådana organismer som *Peptostreptococcus, Peptococcus och Bacteroides asaccharolyticus*. Blod kan innehålla antimikrobiella substanser eller andra inhibitorer som kan förlångsamma eller förhindra växt av mikroorganismer. Falskt negativa avläsningar kan inträffa vid närvaro av vissa organismer som inte producerar tillräckligt med CO_2 för att kunna detekteras av systemet eller då betydande tillväxt redan har ägt rum innan flaskan placerats i systemet. Falskt positiva avläsningar kan inträffa vid högt antal vita blodkroppar.

På grund av de i odlingsmedier ingående biologiska materialens natur och organismernas variabilitet, bör användaren vara medveten om möjligheten för varierande resultat vid påvisning av vissa mikroorganismer.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN OCH SPECIFIKA FUNKTIONSEGENSKAPER

Prestandan hos **BD BACTEC** Plus Aerobic/F och Plus Anaerobic/F medier har fastställts i ett antal externa kliniska studier.[1-3,8,9] Laboratoriestudier med insådda kulturer utförda av BD har visat likvärdig prestanda hos **BD BACTEC** Plus Aerobic/F och Plus Anaerobic/F medier jämfört med icke-radiometriska **BACTEC** Plus 26 and Plus 27.[10]

TILLGÄNGLIGHET

Kat. nr	Beskrivning
442192	**BD BACTEC** Plus Aerobic/F Medium
442193	**BD BACTEC** Plus Anaerobic/F Medium

REFERENSER: Se avsnittet “References” i den engelska texten.

BD Diagnostics teknisk service: Kontakta närmaste BD-representant.

Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođać / Gyártó / Fabbricante / Атқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник

Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanma tarihi / Використати до\line
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârşitul lunii)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet av månaden)
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
РРРР-ММ-ДД / РРРР-ММ (ММ = кінець місяця)

REF

Catalog number / Каталожен номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом

EC REP

Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisas / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / İn Vitro Diyagnostik Tıbbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro

Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperatuurlimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури

LOT

Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <п> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conţinut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultaţi instrucţiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання





Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:
Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia